

Lettre à la rédaction

Dosage du mercure plasmatique par ICP-MS. Concentrations usuelles chez 53 sujets volontaires

ICP-MS plasmatic mercury determination. Usual values found in 53 healthy volunteers

Jean-Pierre Goullé*, Loïc Mahieu, Elodie Saussereau, Christian Lacroix

Laboratoire de Pharmacocinétique et de Toxicologie Cliniques, Groupe Hospitalier du Havre, BP 24, 76083 Le Havre Cedex, France

Mots clés : Mercure, plasma, ICP-MS

Key words: Mercury, plasma, ICP-MS

Reçu le 7 janvier 2008, accepté après modifications le 4 février 2008

Publication en ligne le 6 juin 2008

Nous avons précédemment décrit la validation d'une technique de dosage simultanée d'éléments minéraux par spectrométrie d'émission à plasma induit (ICP-MS) et son application à divers milieux biologiques. Des concentrations usuelles ont été établies pour 24 éléments dans le sang total, 27 éléments dans le plasma et 29 éléments dans les urines chez 100 volontaires [1]. Nous avons également quantifié 31 éléments dans le sang total et les urines chez 54 sujets décédés [2]. Ces mesures ont été complétées par la détermination de 32 éléments dans les phanères, cheveux et ongles [3,4]. Si le dosage du mercure a pu être facilement validé dans les conditions décrites, dans le sang total, les urines, les cheveux et les ongles, nous avons été confrontés à des problèmes analytiques pour le dosage du mercure plasmatique [1]. Le principe du dosage des éléments minéraux par ICP-MS fait appel à la nébulisation d'une dilution de l'échantillon biologique dans un plasma à très haute température (8000 K) qui a pour rôle d'ioniser les atomes sous forme de cations monovalents. Les ions ainsi obtenus sont focalisés et analysés par un quadripôle où ils sont séparés en fonction du rapport de leur masse atomique sur leur charge. Un détecteur quantifie l'intensité du signal pour chaque masse. En ce qui concerne le mercure, nous nous heurtons à deux difficultés. Contrairement à la grande majorité des éléments, il n'est que partiellement ionisé, en raison d'un potentiel de première ionisation élevé (10,43 eV), comme c'est le cas pour le carbone, l'azote, l'oxygène, le soufre et les halogènes, mais la grande sensibilité de l'ICP-MS permet de quantifier le mercure dans les milieux biologiques en optimisant son ionisation. La seconde difficulté est due à un « effet mémoire » prononcé de l'élément rendant son dosage plasmatique non fiable dans les conditions habituelles d'analyse. Ce phénomène est lié à

une adsorption du mercure à deux niveaux : dans le circuit qui amène l'échantillon à analyser dans l'ICP et dans la chambre de nébulisation. En effet, la dilution du plasma qui est aspirée, puis introduite dans l'appareil à débit constant grâce à une pompe péristaltique selon le principe du flux continu, subit un contact important pendant cette phase de transfert de l'échantillon vers la torche. Ce sont les raisons pour lesquelles nous avons développé une technique analytique permettant de limiter au maximum ces inconvénients.

Matériel et réactifs

- L'appareil utilisé est un ICP-MS X7/CCT, ThermoElectron (Courtaboeuf, France). Les conditions de mise en œuvre sont identiques à celles décrites précédemment [1–5] ;
- Argon à 99,999 %, Linde gas (Gargenville, France) ;
- Eau purifiée sur Milli – QPLUS 185, Millipore (Saint-Quentin-en-Yvelines, France) ;
- HNO₃ suprapur (réf. 1.00441.0250), HCl suprapur (réf. 1.00318.1000), Triton X100 (réf. 1.12298.0101), Merck (Darmstadt, Allemagne) ;
- N-butanol rectapur (réf. 20 808.291), Prolabo WWR (Fontenay-sous-Bois, France) ;
- Étalon interne : Rh 1g/L (réf. PN/S4400-1000442), CPI international (Amsterdam, Hollande). Cette solution mère sert à préparer une solution fille à 10 mg/L (dans HNO₃ à 2 %) ;
- Au en solution à 1 g/L (réf. FN/S4400-1000212), CPI international ;
- Hg en solution à 20 mg/L (réf. 4400-070124 bw01), CPI international, qui permet de préparer une solution fille de Hg à 200 µg/L (dans HNO₃ à 2 %) ;

* Correspondance : Jean-Pierre Goullé, jgoulle@ch-havre.fr

- Tubes en polyéthylène téréphtalate (PET) pour éléments traces de 4 mL (réf. 368921), BD diagnostics (Le Pont de Claix, France).

Méthode

Diluant : il présente la composition suivante : 0,1 mL de chaque solution fille d'étalon interne (Rh à 10 mg/L) - 0,1 mL de triton X 100 - 5 mL HNO₃, 5 mL HCl, 5 mL N-butanol - 0,1 mL de la solution d'or à 1 g/L - eau QSP 1 000 mL.

Solutions étalon : elles sont réalisées dans HNO₃ à 2 % v/v pour les 5 étalons (E₁ à E₅) :

	Concentration en Hg (µg/L)	HNO ₃ 2 % (mL)	Solution fille de Hg (mL)
Étalon 1	9	1,910	0,090
Étalon 2	18	1,820	0,180
Étalon 3	36	1,640	0,360
Étalon 4	72	1,280	0,720
Étalon 5	144	0,560	1,440

Gamme étalon et échantillons : une gamme étalon est préparée dans l'eau, les plasmas sont dilués au dixième :

Concentration en Hg	Diluant (mL)	Ajout dosé (mL)	HNO ₃ 2 % (mL)	Eau (mL)	Plasma (mL)
0 µg/L	2,6	-	0,1	0,3	-
0,3 µg/L	2,6	0,1 de E ₁	-	0,3	-
0,6 µg/L	2,6	0,1 de E ₂	-	0,3	-
1,2 µg/L	2,6	0,1 de E ₃	-	0,3	-
2,4 µg/L	2,6	0,1 de E ₄	-	0,3	-
4,8 µg/L	2,6	0,1 de E ₅	-	0,3	-
Plasma	2,6	-	0,1	-	0,3

Une solution contenant 1 µg/L de Hg sert à optimiser les réglages de l'appareil, une solution présentant la même composition que le diluant mais sans étalon interne est utilisée pour le rinçage.

Résultats

Pour l'isotope 202 du mercure (²⁰²Hg) les résultats de la validation sont indiqués dans le tableau ci-dessous. Les dosages réalisés chez 53 sujets volontaires, sur les nouveaux tubes pour éléments traces, dans ces conditions analytiques ont permis d'établir une concentration plasmatique médiane pour le mercure (²⁰²Hg) de 0,66 µg/L et un intervalle de référence de 0,19 à 1,85 µg/L (5^e au 95^e percentile).

Linéarité (r)	Limite de détection (µg/L)	Limite de quantification (µg/L)	Répétabilité CV (%)	Reproductibilité CV (%)	Précision (%)
Étalon interne de rhodium (1 ppb = 1 µg/L)					
0,999	0,02	0,08	4,4	7,7	107,5

Applications

Dans le sang, le mercure se trouve sous deux formes principales :

- le mercure organique (érythrocytes 90 %, plasma 10 %),
- le mercure inorganique (érythrocytes 50 %, plasma 50 %).

Alors que le dosage dans le sang total reflète essentiellement l'apport alimentaire de mercure organique sous forme de méthylmercure, le mercure plasmatique est un meilleur marqueur d'exposition au mercure métal ou inorganique. Le dosage du mercure plasmatique s'avère donc très utile dans un certain nombre de circonstances : surveillance d'exposition - professionnelle ou non - au mercure métal, intoxication par un sel minéral de mercure. Le dosage du mercure plasmatique a également été proposé comme marqueur biologique du mercure issu des amalgames dentaires [6]. S'il existe une corrélation positive entre le nombre d'amalgames et le mercure plasmatique, comme cela a été montré dans plusieurs études [6], le mercure inorganique plasmatique n'augmente en moyenne que de 0,02 µg/L par surface d'amalgame [7], ce qui est insignifiant.

Références

- Goullé JP, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Lainé G, Nouveau MP, Gehanne R, Bouige D, Lacroix C. Dosage multiélémentaire des métaux et métalloïdes par ICP-MS : valeurs usuelles chez 100 témoins. *Ann Toxicol Anal.* 2004; 16: 261-268.
- Goullé JP, Mahieu L, Maignant V, Bouige D, Saussereau E, Lacroix C. Valeurs usuelles des métaux et métalloïdes dans le sang total et les urines par ICP-MS chez cinquante quatre sujets décédés. *Ann Toxicol Anal.* 2007; 19: 43-52.
- Goullé JP, Mahieu L, Bonneau L, Lainé G, Bouige D, Lacroix C. Validation d'une technique de dosage multiélémentaire des métaux et métalloïdes dans les cheveux par ICP-MS. Valeurs de référence chez 45 témoins. *Ann Toxicol Anal.* 2005; 17: 97-103.
- Goullé JP, Mahieu L, Saussereau E, Bouige D, Groenwont S, Lacroix C. Validation d'une technique de dosage multiélémentaire des métaux et métalloïdes dans les ongles par ICP-MS. Valeurs usuelles chez 130 sujets volontaires. *Ann Toxicol Anal.* 2007; 19: 125-134.
- Goullé JP, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Lainé G, Nouveau MP, Gehanne R, Bouige D, Lacroix C. Validation d'une technique de dosage multi-élémentaire des métaux par ICP-MS dans les milieux biologiques. *Ann Toxicol Anal.* 2003; 15: 271-280. Correctif dans *Ann Toxicol Anal.* 2004; 16: 257-260.
- Le mercure des amalgames dentaires, rapport, octobre 2005, 163 p, AFSSAPS www.afssaps.sante.fr, consulté le 15 janvier 2008.
- Bergdahl IA, Schutz A, Ahlqwist M, Bengtsson C, Lapidus L, Lissner L, Hulthen B. Methylmercury and inorganic mercury in serum-correlation to fish consumption and dental amalgam in a cohort of women born in 1922. *Environ Res.* 1998; 77: 20-24.