

## Lettre à la rédaction

# Dosage multiélémentaire dans le plasma et le sang total par ICP-MS : influence du matériel de prélèvement

## *Plasma and whole blood multielementary ICP-MS determination: influence of the blood collection device*

Jean-Pierre Goullé<sup>1,2</sup>, Loïc Mahieu<sup>1</sup>, Elodie Sausseureau<sup>1</sup>, Daniel Bouige<sup>1</sup>, Michel Guerbet<sup>2</sup>, Christian Lacroix<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de pharmacocinétique et de toxicologie Cliniques, Groupe Hospitalier du Havre, BP 24, 76083 Le Havre Cedex, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Toxicologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, 22 boulevard Gambetta, 76183 Rouen Cedex, France

**Mots clés :** Métaux, sang, plasma, ICP-MS

**Key words:** Metals, blood, plasma, ICP-MS

Reçu le 27 juin 2008, accepté après modifications le 11 juillet 2008

Publication en ligne le 31 janvier 2009

Nous avons précédemment détaillé la validation d'une technique de dosage simultanée d'éléments minéraux par spectrométrie d'émission à plasma induit (ICP-MS) dans le sang total et le plasma [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 puis analysés dans un quadripôle où ils sont séparés en fonction de leur rapport masse atomique sur charge ( $m/z$ ). Le détecteur, équipé d'un multiplicateur d'électrons quantifie l'intensité du signal pour chaque masse éjectée du quadripôle. Compte tenu des faibles concentrations présentes dans le sang pour bon nombre d'éléments, le matériel de prélèvement utilisé, les tubes et les aiguilles, doivent être exempts de toute trace de minéral, en particulier ceux à quantifier. Mais, s'agissant d'une technique multiélémentaire portant sur un grand nombre d'éléments, il s'agit d'une contrainte très difficile à respecter. C'est la raison pour laquelle la société Becton Dickinson, a commercialisé depuis plusieurs années, un tube de prélèvement sanguin pour éléments traces. Nous avons établi en 2004 les concentrations normales dans le sang total et le plasma à l'aide de ce contenant en verre [1]. Si ce dispositif de prélèvement est bien adapté à la grande majorité des minéraux quantifiés par ICP-MS, pour d'autres, ce n'est pas le cas. Récemment, cette société a développé un matériau de prélèvement en polyéthylène téréphtalate (PET) pour éléments

traces. Ceci nous a incité à évaluer ces nouveaux tubes dans le but de les substituer au modèle précédent dont la fabrication devait être arrêtée. De ce fait, les normales établies antérieurement avec des tubes en verre [1] ne pouvaient être utilisées pour le PET et devaient être validées avec ce contenant. Nous avons également essayé simultanément un autre type de tube de prélèvement.

### Matériel et réactifs

- 53 volontaires indemnes de toute affection ;
- l'appareil utilisé est un ICP-MS X7/CCT, ThermoElectron (Courtaboeuf, France).

Les conditions de mise en œuvre sont identiques à celles publiées précédemment [1] ;

- Argon à 99,999 %, Linde gas (Gargenville, France) ;
- Eau purifiée sur Milli – QPLUS 185, Millipore (Saint-Quentin-en-Yvelines, France) ;
- HNO<sub>3</sub> suprapur (réf. 1.00441.0250), HCl suprapur (réf. 1.00318.1000), Triton X100 (réf. 1.12298.0101), Merck (Darmstadt, Allemagne) ;
- multiélément standard à façon contenant tous les éléments à 1 ou 2500 mg/L, (réf. 4400-070124), CPI international (Amsterdam, Hollande) ;

- N-butanol rechapur (réf. 20 808.291), Prolabo WWR (Fontenay-sous-Bois, France);
- étalon interne : Rh 1g/L (réf. PN/S4400-1000442), CPI international (Amsterdam, Hollande). La solution mère de l'étalon interne sert à préparer une solution fille à 10 mg/L (dans HNO<sub>3</sub> à 2 %);
- nouveaux tubes en polyéthylène téréphtalate (PET) pour éléments traces de 4 mL (réf. 368 921), contenant de l'EDTA di-K, BD diagnostics (Le Pont de Claix, France);
- anciens tubes en verre pour éléments traces de 7 mL (réf. 367 735), contenant de l'héparinate de sodium, BD diagnostics (Le Pont de Claix, France);
- tubes en verre pour cytologie hématologie de 7 mL (réf. 367 654), contenant de l'EDTA tri-K, BD diagnostics (Le Pont de Claix, France).

## Méthode

Les conditions analytiques, déjà décrites précédemment [1], sont rappelées.

### Préparation des gammes d'étalonnage :

Les gammes d'étalonnage permettant le dosage multiélémentaire dans le plasma sont réalisées en solution aqueuse, directement dans la solution diluante. En fait, l'étalonnage utilise une gamme de concentrations en 5 points, préparée dans une solution d'acide nitrique 0,144 M, en fonction de la concentration à mesurer pour chaque élément. En ce qui concerne le sang total, le dosage multiélémentaire est effectué par la méthode des ajouts dosés, autrement dit par une gamme de concentrations dans la matrice considérée, préparée à l'aide d'un pool de sang. Une gamme d'ajouts dosés est réalisée, dans les mêmes conditions que pour le plasma.

### Préparation des échantillons :

Les échantillons plasmatiques sont préparés par dilution au dixième, dans une solution aqueuse composée d'acide nitrique 0,144 M, de 0,5 % de 1-butanol et de triton 0,01 % (v/v), dans des tubes en polypropylène. Les échantillons de sang, préalablement congelés à -27 °C puis décongelés, sont dilués au dixième dans une solution aqueuse composée d'acide nitrique 0,144 M, de 0,5 % de 1-butanol et de triton 0,1 % (v/v) dans des tubes en polypropylène. Une fois l'hémolyse achevée, les mélanges sont centrifugés à 4000 tours/min.

La validité des dosages est vérifiée en interne pour le plasma et le sang total par des contrôles titrés par ICP-MS Seronorm niveau 1 (Trace elements serum level 1 – réf. 201 405; Trace elements whole blood 2 – réf. 201 607; SERO AS, Billingstade, Norvège). Le laboratoire participe au contrôle de qualité canadien par ICP-MS (Programme de comparaisons interlaboratoires, Sainte Foy, Canada) qui adresse trois fois par an à ses adhérents des échantillons dans le cadre d'un programme externe d'assurance qualité international.

## Résultats

Les tableaux I et II montrent les résultats obtenus pour une trentaine d'éléments dans le sang total et le plasma recueillis dans les deux types de tubes pour éléments traces.

## Discussion

Plusieurs éléments ont été quantifiés avec les nouveaux tubes en PET alors qu'ils ne l'avaient pas été avec les tubes en verre, tant dans le sang total (lithium, cuivre, zinc, brome, argent, lanthane, gadolinium) que dans le plasma (brome, palladium, argent, lanthane, gadolinium, mercure). Il s'agit d'éléments dont le dosage dans le sang total nous avait semblé d'intérêt limité (lithium, cuivre, zinc); ou pour lesquels nous avons rencontré des difficultés analytiques (argent dans le sang total et le plasma, palladium dans le plasma); ou bien correspondant à des besoins toxicologiques nouveaux (lanthane et gadolinium). En ce qui concerne le molybdène nous avons procédé à une modification : la quantification est effectuée non plus sur l'isotope 95, mais sur l'isotope 98. Ceci améliore de manière importante la spécificité de la mesure, surtout dans le sang total. Quant au mercure plasmatique rappelons qu'il s'agit du seul dosage qui n'est pas réalisé en mode multiélémentaire [2]. Enfin, la détermination du brome dans le plasma et le sang total est semi-quantitative. Ce paramètre n'a pas été validé en mode quantitatif, l'approche semi-quantitative étant suffisante pour nos applications.

L'analyse des résultats des tableaux I et II montre qu'aucun contenant n'est idéal. Ainsi les tubes en verre pour éléments traces apportent des quantités non négligeables d'étain, de baryum et indirectement de gallium, de gadolinium et d'uranium et majorent les résultats obtenus dans le sang total et le plasma. Les prélèvements sur tube PET doivent être exclus pour la détermination de l'antimoine et du plomb plasmatique. L'aluminium est un élément pour lequel la sensibilité en ICP-MS n'est pas bonne, et un grand nombre d'échantillons présente des concentrations inférieures à la limite de quantification. Celle-ci est respectivement de 8,1 et de 7,7 µg/L dans le sang total et le plasma. Ceci rend très difficile l'interprétation des concentrations médianes calculées, inférieures à ces valeurs. Il s'agit du seul paramètre pour lequel nous continuons à utiliser en routine la spectrophotométrie d'absorption atomique électrothermique. Cette mauvaise sensibilité, si elle ne permet pas le suivi en routine des malades hémodialysés, est suffisante dans un cadre toxicologique. Le tableau III récapitule les éléments qu'il convient de ne pas quantifier avec chaque type de contenant, y compris avec les tubes en verre pour cytologie hématologique. Pour ces derniers, le nombre de métaux qu'il est déconseillé de ne pas quantifier est encore plus important qu'avec les tubes pour éléments traces. L'apport de polluants métalliques provient soit du matériau et/ou procédé de fabrication du contenant ainsi que des impuretés de l'anticoagulant. L'aiguille de prélèvement est également une source de contamination possible qui doit être prise en compte.

**Tableau I.** Concentrations usuelles dans le sang total recueilli sur tube pour éléments traces en verre BD 367 735 (*n* = 100) et en PET BD 368 921 (*n* = 53). Les résultats sont exprimés en µg/L ou en ng/mL.

	Tube en verre BD 367 735		Tube en PET BD 368 921	
	Héparinate de Na		EDTA di-K	
	<i>(n</i> = 100)		<i>(n</i> = 53)	
	Dispersion		Dispersion	
	Médiane	5 <sup>e</sup> –95 <sup>e</sup> percentile	Médiane	5 <sup>e</sup> –95 <sup>e</sup> percentile
<sup>7</sup> Lithium		–	0,9	0,3–8,1
<sup>9</sup> Béryllium	0,02	0,02–0,09	0,07	0,02–0,07
<sup>10</sup> Bore	26	14–44	27	7,1–80
<sup>27</sup> Aluminium	1,3	1,3–6,4	6,3	1,3–18
<sup>55</sup> Manganèse	7,6	5,0–13	7,6	5,1–14
<sup>59</sup> Cobalt	0,25	0,04–0,64	0,24	0,13–0,50
<sup>60</sup> Nickel	2,1	0,10–4,2	2,5	0,30–5,5
<sup>65</sup> Cuivre			975	745–1683
<sup>66</sup> Zinc			5681	4300–7518
<sup>71</sup> Gallium	3,5	2,7–4,7	0,76	0,53–1,4
<sup>72</sup> Germanium	16	11–20	16	12–23
<sup>75</sup> Arsenic	5,0	2,6–18	3,2	12–14
<sup>81</sup> Brome*			1923	1281–2962
<sup>82</sup> Sélénium	119	89–154	105	83–183
<sup>85</sup> Rubidium	1680	1289–2358	1678	1126–2461
<sup>88</sup> Strontium	16	9–41	18	10–54
<sup>95</sup> Molybdène	2,9	0,77–7,86		
<sup>98</sup> Molybdène			0,46	0,28–1,0
<sup>105</sup> Palladium	0,08	0,01–0,71	0,09	0,02–0,33
<sup>107</sup> Argent			0,071	0,071–0,31
<sup>111</sup> Cadmium	0,31	0,15–2,0	0,45	0,16–1,4
<sup>118</sup> Étain	1,1	0,11–1,75	0,21	0,11–0,56
<sup>121</sup> Antimoine	0,08	0,05–0,13	2,7	1,9–3,6
<sup>125</sup> Tellure	0,16	0,11–0,45	0,17	0,09–0,47
<sup>137</sup> Baryum	59	46,4–77,6	0,28	0,08–0,81
<sup>139</sup> Lanthane			0,03	0,03–0,17
<sup>157</sup> Gadolinium			0,010	0,002–0,040
<sup>182</sup> Tungstène	0,006	0,004–0,082	0,013	0,04–0,14
<sup>195</sup> Platine	0,002	0,002–0,010	0,002	0,002–0,006
<sup>202</sup> Mercure	3,0	0,94–8,1	2,4	0,64–7,4
<sup>205</sup> Thallium	0,02	0,011–0,035	0,02	0,003–0,059
<sup>208</sup> Plomb	26	11–63	19	8–75
<sup>209</sup> Bismuth	0,001	0,001–0,007	0,001	0,001–0,032
<sup>238</sup> Uranium	0,004	0,002–0,006	0,001	0,001–0,003

\* Dosage semi-quantitatif.

**Tableau II.** Concentrations usuelles dans le plasma. Le sang est recueilli dans des tubes pour éléments traces en verre BD 367 735 ( $n = 100$ ) et en PET BD 368 921 ( $n = 53$ ). Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g/L}$  ou en  $\text{ng/mL}$ .

	Tube en verre BD 367 735		Tube en PET BD 368 921	
	Héparinate de Na		EDTA di-K	
	$(n = 100)$		$(n = 53)$	
	Dispersion		Dispersion	
	Médiane	5 <sup>e</sup> –95 <sup>e</sup> percentile	Médiane	5 <sup>e</sup> –95 <sup>e</sup> percentile
<sup>7</sup> Lithium	3,4	1,8–19	2,0	0,7–9,1
<sup>9</sup> Béryllium	0,02	0,02–0,10	0,02	0,02–0,10
<sup>10</sup> Bore	36	19–79	37	8–78
<sup>27</sup> Aluminium	3,1	1,2–17	4,7	1,2–21
<sup>55</sup> Manganèse	1,1	0,63–2,3	1,7	1,0–2,6
<sup>59</sup> Cobalt	0,49	0,30–1,02	0,35	0,14–0,64
<sup>60</sup> Nickel	2,2	0,04–5,3	1,6	0,8–3,8
<sup>65</sup> Cuivre	1075	794–2023	1097	772–2400
<sup>66</sup> Zinc	726	551–925	703	477–843
<sup>71</sup> Gallium	6,12	5,0–8,8	0,08	0,08–0,26
<sup>72</sup> Germanium	5,1	3,7–6,2	2,3	0,5–3,9
<sup>75</sup> Arsenic	6,2	4,4–14,2	2,1	0,7–16
<sup>81</sup> Brome*			2888	1947–4108
<sup>82</sup> Sélénium	112	79–141	99	72–136
<sup>85</sup> Rubidium	148	101–358	309	207–445
<sup>88</sup> Strontium	29	18–75	34	19–93
<sup>95</sup> Molybdène	0,96	0,67–1,7		
<sup>98</sup> Molybdène			0,78	0,39–1,7
<sup>105</sup> Palladium			0,10	0,05–0,17
<sup>107</sup> Argent			0,07	0,01–0,36
<sup>111</sup> Cadmium	0,03	0,01–0,05	0,04	0,02–0,16
<sup>118</sup> Étain	1,8	0,15–2,7	0,15	0,15–0,50
<sup>121</sup> Antimoine	0,11	0,03–0,15	3,7	2,3–5,2
<sup>125</sup> Tellure	0,06	0,02–0,13	0,06	0,02–0,12
<sup>137</sup> Baryum	111	90–154	0,76	0,39–2,1
<sup>139</sup> Lanthane			0,06	0,01–0,32
<sup>157</sup> Gadolinium			0,002	0,001–0,06
<sup>182</sup> Tungstène	0,24	0,09–0,75	0,10	0,10–0,31
<sup>195</sup> Platine			0,005	0,005–0,010
<sup>202</sup> Mercure			0,66	0,19–1,85
<sup>205</sup> Thallium	0,06	0,01–0,24	0,12	0,05–0,33
<sup>208</sup> Plomb	0,062	0,014–0,25	1,7	0,25–9,0
<sup>209</sup> Bismuth	0,002	0,002–0,401	0,002	0,002–0,012
<sup>238</sup> Uranium	0,007	0,004–0,011	0,002	0,001–0,004

\* Dosage semi-quantitatif.

**Tableau III.** Dosage multiélémentaire par ICP-MS : tableau de compatibilité en fonction du type de contenant dans le sang total et le plasma.

Protocole de prélèvement pour le dosage d'éléments et métaux traces dans le sang			
Fournisseur	BD	BD	BD
Matière du tube	Verre	PET	Verre
Anticoagulant	Heparinate de Na	EDTA di-K	EDTA Tri-K
Couleur bouchon	Bleu	Bleu	Mauve
Référence :	367735	368381	367654
<sup>7</sup> Lithium	X	X	X
<sup>9</sup> Béryllium	X	X	X
<sup>10</sup> Bore	X	X	X
<sup>27</sup> Aluminium	X	X	NON
<sup>55</sup> Manganèse	X	X	X
<sup>59</sup> Cobalt	X	X	X
<sup>60</sup> Nickel	X	X	X
<sup>65</sup> Cuivre	X	X	X
<sup>66</sup> Zinc	X	X	NON
<sup>71</sup> Gallium	NON	X	X
<sup>72</sup> Germanium	X	X	X
<sup>75</sup> Arsenic	X	X	X
<sup>81</sup> Brome	X	X	X
<sup>82</sup> Sélénium	X	X	X
<sup>85</sup> Rubidium	X	X	NON
<sup>88</sup> Strontium	X	X	X
<sup>98</sup> Molybdène	X	X	X
<sup>105</sup> Palladium	X	X	X
<sup>107</sup> Argent	X	X	X
<sup>111</sup> Cadmium	X	X	X
<sup>118</sup> Étain	NON	X	X
<sup>121</sup> Antimoine	X	NON	X
<sup>125</sup> Tellure	X	X	X
<sup>137</sup> Baryum	NON	X	NON
<sup>139</sup> Lanthane	X	X	NON
<sup>157</sup> Gadolinium	NON	X	NON
<sup>182</sup> Tungstène	X	X	NON
<sup>195</sup> Platine	X	X	X
<sup>202</sup> Mercure	X	X	X
<sup>205</sup> Thallium	X	X	X
<sup>208</sup> Plomb plasma	X	NON	NON
<sup>208</sup> Plomb sang total	X	X	X
<sup>209</sup> Bismuth	X	X	X
<sup>238</sup> Uranium	NON	X	X

## Conclusion

En raison de sa très grande sensibilité et du mode multiélémentaire des mesures, le dosage des éléments traces par ICP-MS constitue une méthode de choix. Les applications possibles sont nombreuses tant en toxicologie clinique, que professionnelle, environnementale, domestique ou médico-légale. Le choix du matériel de prélèvement destiné au recueil du sang conditionne la qualité des résultats. Leur interprétation doit être réalisée en fonction des valeurs normales établies par chaque laboratoire dans ses conditions de recueil.

## Références

1. 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.
2. Goullé JP, Mahieu L, Saussereau E, Lacroix C. Dosage du mercure plasmatique par ICP-MS. Concentrations usuelles chez 53 sujets volontaires. *Ann Toxicol Anal.* 2008; 20: 53-54.