

ENJEUX MÉTROLOGIQUES ASSOCIÉS AUX DONNÉES DE BIOSURVEILLANCE

// METROLOGICAL ISSUES ASSOCIATED TO BIOMONITORING DATA

Kahina Slimani¹, Fabien Mercier¹, Barbara Le Bot¹, Jean-Philippe Antignac², Emmanuelle Bichon², Arthur David¹, Philippe Quénel (philippe.quenel@ehesp.fr)¹

¹ Université de Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail) – UMR_S 1085, Rennes, France

² Laberca, Oniris, Inra, Université Bretagne-Loire, Nantes, France

Soumis le 06.09.2019 // Date of submission 09.06.2019

Résumé // Abstract

La biosurveillance humaine a pour objectif d'évaluer l'exposition de la population aux substances chimiques organiques et inorganiques afin d'élaborer des valeurs de référence, de comparer les niveaux d'exposition de sous-populations, de mettre en évidence des tendances temporelles ou géographiques, ou encore d'évaluer l'impact de mesures de gestion. Pour cela, la mesure de ces marqueurs biologiques d'exposition (*i.e.* biomarqueurs) doit reposer sur des méthodologies harmonisées afin de minimiser les biais analytiques et de pouvoir comparer les résultats. Cela nécessite en particulier de déterminer la forme chimique sous laquelle le biomarqueur doit être analysé (composé parent ou métabolites) et de recourir à la méthode analytique la plus appropriée au biomarqueur sélectionné. Les résultats devront être normalisés pour minimiser les variations physiologiques intra et interindividuelles et ainsi permettre une meilleure interprétation et comparabilité. Dans cet article, nous abordons et discutons les questions relatives aux enjeux analytiques évoqués ci-dessus.

Dans un premier temps, nous discutons comment la prise en compte de la toxicocinétique des substances considérées peut permettre de sélectionner, en fonction de la matrice biologique considérée, le biomarqueur (composé parent ou métabolites) le plus pertinent à analyser au regard des critères de fréquence de détection, concentration et spécificité, ou encore des profils d'excrétion urinaire cycliques.

Nous abordons ensuite la question de la méthode analytique et discutons comment différents paramètres tels que la conservation de l'échantillon, le choix d'une méthode de déconjugaison, la préparation d'échantillon ou encore la filière analytique peuvent influencer les résultats d'analyse.

Enfin nous discutons comment la prise en compte de paramètres physiologiques propres aux individus de la population d'étude, pour des matrices biologiques telles que le sang, l'urine et le cheveu, peut affecter de manière significative le calcul de la concentration du xénobiotique considéré.

*The purpose of human biomonitoring is to assess the exposure of populations to organic and inorganic substances, in order to develop reference values to compare populations or subgroups, to highlight temporal or geographical trends or assess the impact of management measures. The measure of these biological exposure markers (*i.e.* biomarkers) has to be based on standardized methodologies, in order to achieve a better comparability of results and minimize analytical bias. This requires, in particular, choosing the chemical form in which the biomarker has to be analyzed (parent compound or metabolites) and using the most appropriate analytical method for the selected biomarker. The results should be standardized to minimize intra- and inter-individual physiological variations, and thus allow better interpretation and comparability. In this article, we discuss questions related to the analytical issues mentioned above.*

First, we discuss how a better consideration of the toxicokinetics of the considered substances can be used to select, according to the biological matrix, the most relevant biomarker (parent compound or metabolites) to analyze in terms of the detection frequency, concentration, specificity, or cyclic urinary excretion profiles.

Then, we address the issue of the analytical method and discuss how different parameters such as sample storage, choice of deconjugation method, sample preparation and analytical process can influence the analytical results of the considered biomarker.

Finally, we discuss how the inclusion of physiological parameters specific to individuals of the study population for biological matrices such as blood, urine and hair can significantly affect the calculation of the considered xenobiotic concentration.

Mots-clés : Biosurveillance, Toxicocinétique, Méthode analytique, Normalisation, Harmonisation

// **Keywords:** Biomonitoring, Toxicokinetics, Analytical method, Standardization, Harmonization

Introduction et contexte

En 2004, la Commission européenne reconnaissait, dans son Plan d'action 2004-2010 en faveur de l'environnement et de la santé, la pertinence de la biosurveillance humaine comme un outil de surveillance basé sur des indicateurs biologiques (*i.e.* biomarqueurs) « *révélateurs d'expositions environnementales, de maladies et/ou de troubles ou d'une prédisposition génétique, et l'étude des liens éventuels existant entre eux* ». Elle soulignait également le besoin de méthodologies harmonisées afin d'obtenir une meilleure comparabilité des résultats.

Les projets européens ESBIO (*Expert team to Support Biomonitoring*)¹, COPHES (*Consortium to Perform Human Biomonitoring on a European Scale*)², DEMOCOPHES (*Demonstration of a study to Coordinate and Perform Human Biomonitoring on a European Scale*)³ puis HBM4EU (HBM : Human Biomonitoring)⁴ ont ainsi été conduits afin notamment de développer des méthodes d'analyse dédiées aux contaminants chimiques, organiques et inorganiques, visant à une meilleure comparabilité des données en y incluant des règles de bonnes pratiques validées et reconnues par l'ensemble de la communauté scientifique internationale. Mais les enjeux de la métrologie doivent aussi être étudiés au regard des principaux objectifs de la biosurveillance, dont en particulier : i) l'évaluation de l'exposition de la population aux substances chimiques, ii) l'évaluation de la fiabilité analytique des mesures d'exposition, et iii) la comparaison de sous-populations et la mise en évidence de tendances temporelles et géographiques de l'exposition visant à l'élaboration de valeurs de référence.

Le premier enjeu métrologique renvoie au concept de validité interne, c'est-à-dire à l'aptitude des biomarqueurs utilisés à refléter ce qu'ils sont censés mesurer, à savoir l'exposition humaine dans toute sa variabilité. Cette question implique en particulier le choix, difficile, complexe et souvent peu documenté, du couple « biomarqueur/matrice » le plus pertinent, dont la principale caractéristique doit être sa capacité à maximiser la fréquence de détection de l'exposition considérée dans la population d'étude.

Le deuxième enjeu renvoie à la notion de performances des méthodes analytiques et à l'estimation de l'incertitude de mesure, afin de minimiser les biais analytiques et erreurs d'interprétation au regard des niveaux d'exposition mesurés. Il s'agit en particulier de choisir la forme sous laquelle le biomarqueur doit être analysé et de recourir à la méthode analytique la plus appropriée en termes de spécificité et de sensibilité.

Enfin, le dernier enjeu renvoie à la nécessité de normaliser les résultats au moyen d'un paramètre biologique pour minimiser les variations physiologiques interindividuelles, permettant ainsi une meilleure interprétation et comparaison des données, dans l'espace et dans le temps.

L'absence de référentiels ne permettant pas de guider les choix relatifs aux enjeux évoqués dans le champ de la biosurveillance et plus généralement du

biomonitoring en épidémiologie, les options choisies sont souvent le fait d'extrapolation, des connaissances d'une substance considérée à une autre. Nous présentons par la suite les questions posées par ces enjeux.

La détermination du couple biomarqueur/matrice

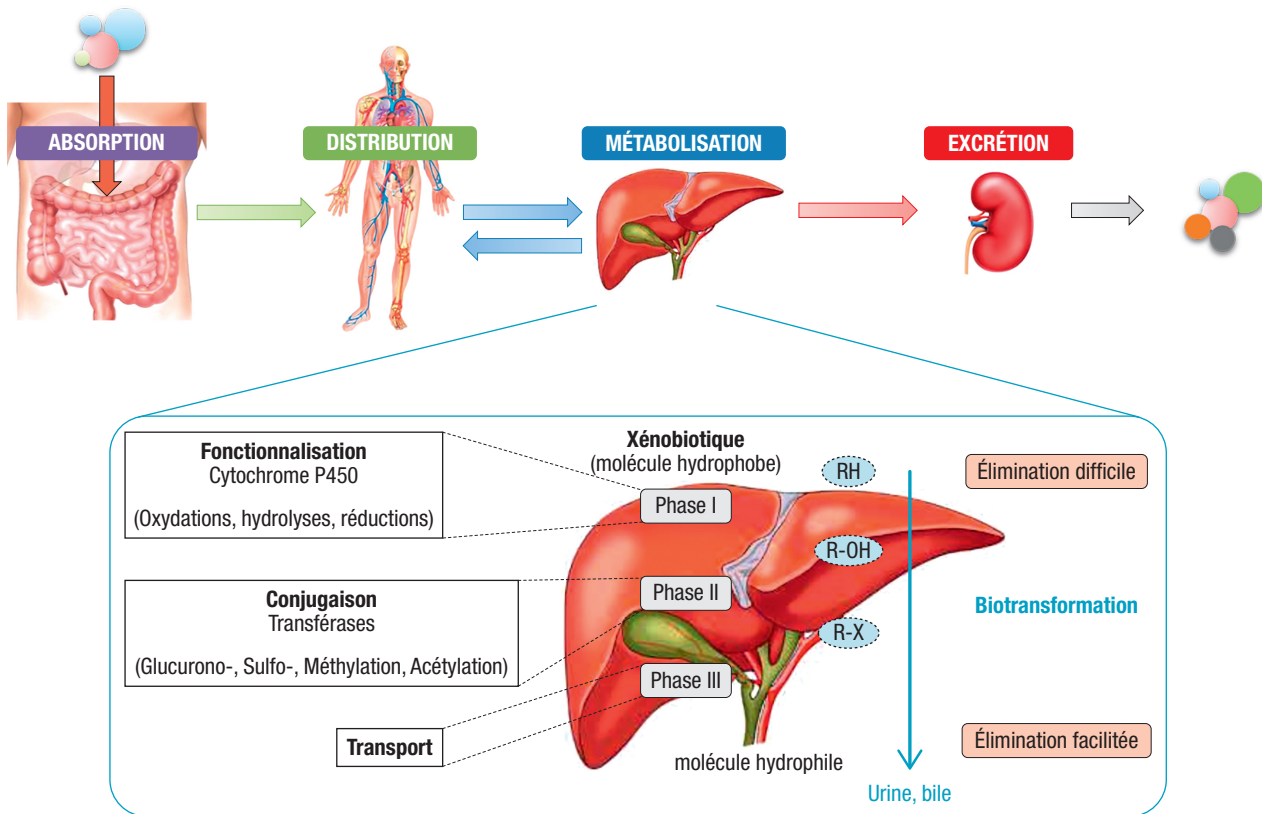
Les xénobiotiques se trouvant généralement à l'état de traces dans les matrices biologiques humaines, l'enjeu pour la biosurveillance est de pouvoir maximiser leur fréquence de détection dans la population d'étude. Cela passe notamment par la détermination du couple optimal biomarqueur/matrice. À cet égard, la prise en compte de la toxicocinétique d'un xénobiotique donné, c'est-à-dire l'étude des phénomènes d'absorption, de distribution tissulaire, de métabolisme et d'excrétion (ADME)⁵, est un élément clé pour caractériser de manière appropriée l'exposition de la population d'étude (figure 1). Elle doit permettre de sélectionner, en fonction de la matrice biologique considérée, le biomarqueur (composé parent ou métabolites) le plus pertinent à analyser au regard des critères de fréquence de détection, fenêtre d'exposition, concentration et spécificité. La prise en compte de la toxicocinétique doit conduire également à ajuster la fenêtre des prélèvements à réaliser, en particulier si les xénobiotiques étudiés sont non-persistants (*i.e.* rapidement métabolisés et/ou excrétés) ou présentent par exemple des profils d'excrétion urinaire cycliques⁶.

Les phénomènes d'absorption (passage du milieu extérieur vers le milieu intérieur), de distribution (concentration dans les différents organes/tissus/sites de stockage), de métabolisme (biotransformation) et d'excrétion (élimination dans le milieu extérieur) sont conditionnés par les propriétés physico-chimiques de la molécule telles que sa masse moléculaire, son degré d'ionisation, sa réactivité et sa solubilité⁵. La masse moléculaire et la polarité sont des facteurs influençant le transport actif ou passif de la molécule à travers une membrane. La solubilité quant à elle est un paramètre important, modulant le passage membranaire cellulaire, le potentiel de la molécule à s'accumuler dans certains tissus et pouvant aussi conditionner l'intervention ou non d'un système de détoxification enzymatique pour son élimination⁷. Au regard des propriétés physico-chimiques de la molécule, le choix de la matrice constitue en soi une information quant à la nature de l'exposition à considérer : à court ou long-terme⁸. Il est également important de noter que dans l'environnement, le xénobiotique peut déjà se trouver sous forme de produits de biotransformation (métabolites) suite à des réactions chimiques se produisant *via* le métabolisme animal ou végétal, ou de produits de dégradation suite à des réactions physico-chimiques abiotiques.

Contrairement aux données physico-chimiques généralement disponibles dans des bases de données en ligne telles que *PubChem* ou *ChemSpider*, les données

Figure 1

Toxicocinétique et métabolisme hépatique des xénobiotiques



Glucurono- : glucuronosyltransferase (UGT).
 Sulfo- : sulfotransferase (SULT).

de toxicocinétique ne le sont que peu fréquemment pour les xénobiotiques. De plus, ces données sont parfois issues de modèles *in vivo* animaux qui ne sont pas toujours extrapolables chez l'homme. Si des modèles *in silico* physiologiques toxicocinétiques tels que les modèles PBPK (*Physiologically-Based Pharmacokinetic*) permettent d'extrapoler la dose interne à partir de la dose externe, l'ajustement des modèles est souvent rendu difficile en raison de la complexité et du nombre de paramètres à considérer.

En pratique, en raison du manque habituel de données toxicocinétiques, plus particulièrement celles liées au métabolisme, la justification du choix du ou des xénobiotiques à analyser (composés parents et/ou métabolites) et de la matrice se fait généralement en extrapolant les connaissances disponibles pour des molécules possédant des propriétés physico-chimiques « plus ou moins » similaires. Bien qu'il existe des exceptions (hydrocarbures aromatiques polycycliques, lindane, etc.), les polluants organiques persistants (*i.e.* dans les milieux environnemental et biologique) sont le plus souvent analysés dans le sang sous leur forme parente (non métabolisée), tandis que les polluants organiques non persistants le sont dans l'urine après hydrolyse enzymatique du biomarqueur cible (*i.e.* formes conjuguées glucuronide et sulfate).

Quant au choix du couple biomarqueur/matrice, il est fait le plus souvent en fonction des méthodes analytiques publiées dans la littérature, mais gagnerait à prendre en compte les données toxicocinétiques

lorsque celles-ci sont disponibles ainsi que la fenêtre d'exposition étudiée. Toutefois, au-delà de la disponibilité des méthodes, il existe encore des limites opérationnelles comme le manque de disponibilité commerciale de standards (natifs ou marqués en isotope stable) permettant le dosage de métabolites peu fréquemment recherchés, la difficulté de prélever et d'échantillonner de manière suffisante les matrices « invasives » ou les contraintes de temps ou financières pour disposer d'échantillons répétés dans le temps et par individu dans le cas des xénobiotiques, sujets à une variabilité intra-journalière.

Méthode d'analyse

Avant même l'analyse du biomarqueur, se pose la question de l'impact des conditions de stockage et de conservation des échantillons biologiques sur la stabilité des marqueurs cibles et *in fine* sur la validité des résultats. Pour préserver les composés organiques, le stockage à -80°C est le plus souvent mis en œuvre et semble adapté pour certaines matrices comme le sang ou l'urine. Les éléments inorganiques étant stables à température ambiante, les échantillons sont toutefois conservés à -20°C pour préserver la matrice. Néanmoins, des dispositions particulières sont prises telles que l'ajout d'un complexant de type EDTA, qui permet d'éviter une coagulation du sang, ou une adsorption des éléments sur le flaconnage, qui biaiserait le résultat d'analyse. Les prélèvements de cheveux sont généralement stockés à température

ambiante dans des enveloppes en papier ou en aluminium. Les conditions de stockage peuvent donc poser question au regard de la matrice et du contaminant, et de leur éventuelle dégradation dans le temps. Sur ce point, il serait utile de mener des études visant à évaluer les conditions de conservation optimales (durée, température, conditionnement...) d'un échantillon biologique en fonction de la substance à doser pour préserver au mieux l'échantillon entre le moment du prélèvement et son analyse, en particulier pour les polluants émergents ou encore peu étudiés.

Vient ensuite la question de l'analyse du biomarqueur : doit-il être dosé sous sa ou ses formes conjuguées (mesure directe des métabolites glucuronide et/ou sulfate...), ou sous sa forme libre après une étape de déconjugaison visant à transformer toutes les formes conjuguées en forme libre (mesure de la concentration totale). Sur ce point également, les données toxicocinétiques relatives au biomarqueur d'intérêt devraient permettre de répondre à cette question. Cependant, le dosage des formes conjuguées et l'étude des rendements de déconjugaison trouvent leurs limites dans la commercialisation peu fréquente de ces formes, conduisant les laboratoires, lorsqu'ils le peuvent, à les faire synthétiser à façon avec une exigence de haute pureté afin de répondre aux conditions instrumentales. Quant au dosage des formes libres, leur principale limite réside dans les moyens limités dont disposent les laboratoires pour contrôler l'efficacité de l'étape de déconjugaison, quelle que soit la méthode utilisée (hydrolyse acide, hydrolyse enzymatique...) et dans la difficulté à appliquer des conditions d'hydrolyse adaptées à l'ensemble des biomarqueurs cibles.

Il s'agit ensuite de développer la méthode d'analyse apte à doser le biomarqueur d'intérêt sous sa forme la plus pertinente, généralement à l'état de traces, voire d'ultra-traces, dans un échantillon biologique par nature complexe et disponible le plus souvent en quantité très limitée (quelques centaines de μL à quelques mL pour le sang et l'urine, quelques dizaines de mg pour les cheveux). La complexité de la matrice et une prise d'essai faible, voire très faible, impliquent généralement une étape de préparation de l'échantillon qui, d'une part vise à isoler la molécule d'intérêt des autres constituants de la matrice susceptibles d'engendrer des interférences analytiques et, d'autre part, à la concentrer pour permettre au système d'analyse de la détecter. Élaborer une méthode suffisamment sensible avec des limites de quantification en accord avec les concentrations attendues est évidemment un point crucial, mais d'autres caractéristiques de performances de la méthode (*i.e.* spécificité, justesse, fidélité) le sont tout autant.

Par ailleurs, plusieurs solutions techniques sont disponibles aujourd'hui pour chaque étape du protocole analytique (extraction, purification, séparation chromatographique et détection) et de nombreux paramètres peuvent être optimisés au cours du développement d'une méthode, si bien qu'il peut y avoir autant de méthodes différentes pour le dosage d'un biomarqueur donné que de laboratoires proposant ce dosage. La figure 2 illustre les différentes méthodes

analytiques existantes pour doser différentes familles de contaminants organiques et inorganiques, selon leurs propriétés physicochimiques et les interférences possibles. Cette multiplicité des stratégies analytiques possibles est à l'origine de difficultés pour conduire des programmes de biosurveillance, impactant la comparabilité des résultats d'analyse d'un laboratoire à l'autre et d'une étude à l'autre. Dans ce contexte, l'harmonisation de ces méthodes via l'élaboration de normes d'analyse ou la publication de méthodes « de référence », et surtout l'harmonisation des procédures d'évaluation des performances et des incertitudes de mesure des méthodes, constituent un enjeu d'actualité à l'échelle internationale.

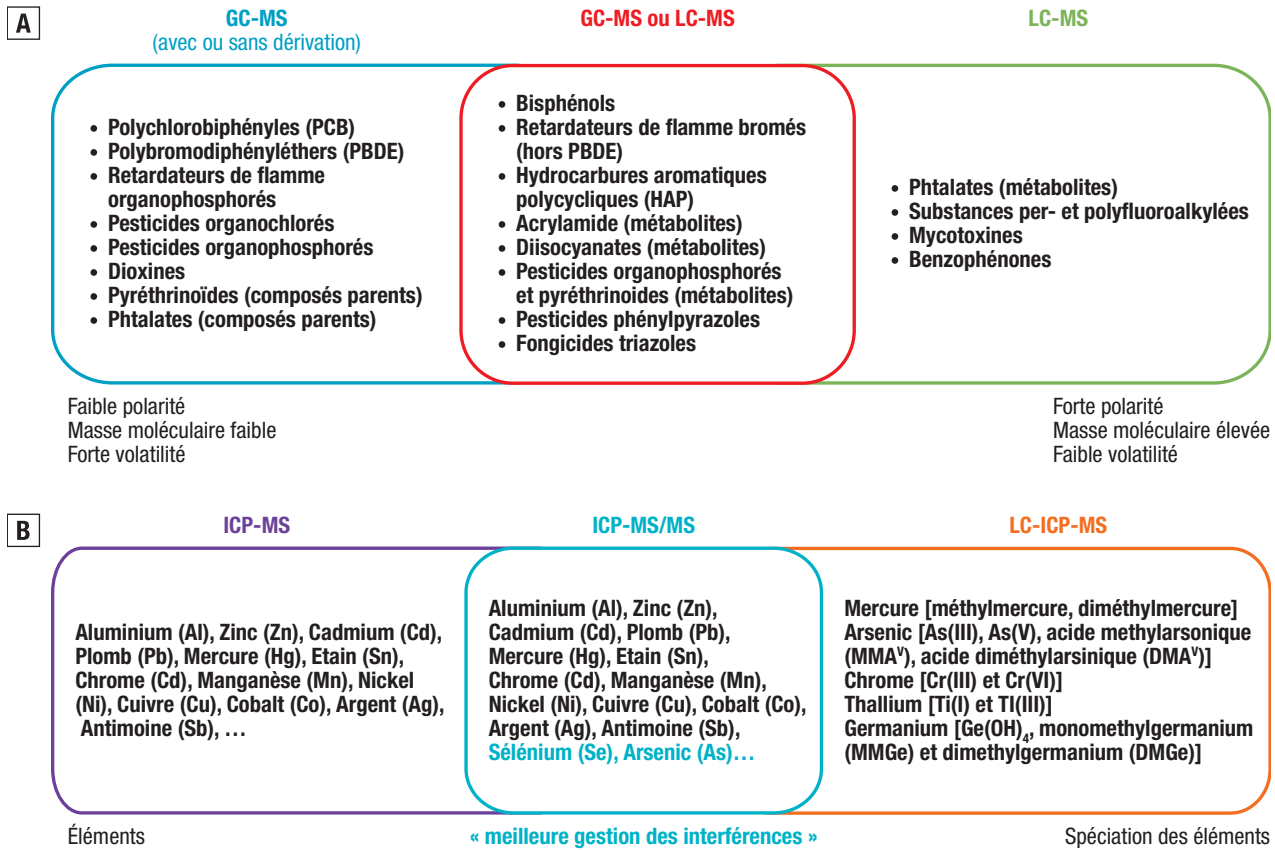
Les enjeux de la normalisation

Les études de biosurveillance ayant également pour objectifs de comparer la distribution de niveaux de xénobiotiques, organiques et inorganiques, entre différentes populations ou d'établir des valeurs de référence de niveaux d'imprégnation biologique, il est primordial de pouvoir prendre en compte les paramètres physiologiques propres aux individus de la population d'étude, comme par exemple le débit urinaire ou le taux de lipides sériques, qui sont très variables d'un individu à l'autre et peuvent affecter de manière significative le calcul de la concentration urinaire ou sanguine du xénobiotique considéré. Ces facteurs d'ajustement sont propres à la matrice considérée, mais également liés à la toxicocinétique de la molécule étudiée.

En ce qui concerne l'urine, les concentrations varient en fonction de la diurèse et du moment du prélèvement^{9,10}. Dans le champ de la biosurveillance, le facteur d'ajustement le plus fréquemment utilisé est la créatinine, qui constitue la méthode de référence actuelle. En effet, la créatinine est éliminée par filtration glomérulaire de façon relativement stable pour un individu, permettant ainsi une correction des concentrations affectées par la diurèse. Cependant, son utilisation est de plus en plus remise en cause du fait de la variabilité de son excrétion d'un individu à l'autre, dépendante de l'indice de masse corporelle, du régime alimentaire, de l'âge ou encore du sexe, pouvant conduire à des variabilités intra et interindividuelles significatives. Le fait que tous les xénobiotiques ne suivent pas la même voie d'élimination rénale est un autre argument d'importance qui remet en cause l'applicabilité générale de ce type d'ajustement. D'autres facteurs d'ajustement existent tels que la gravité spécifique, l'osmolalité, le taux d'excrétion du biomarqueur seul ou ajusté sur le poids, le flux urinaire ajusté. Des études comparatives de différents facteurs d'ajustement ont montré des avantages pour la gravité spécifique, l'osmolalité ou le flux urinaire qui semblent moins impactés par des critères tels que la masse musculaire, l'âge et le sexe^{11,12}. La correction par ces facteurs semble plus pertinente lorsque la population d'étude présente d'importantes différences en termes de masse musculaire et/ou de sexe¹³. Le choix d'utiliser préférentiellement l'un de ces facteurs dépendra également des mécanismes

Figure 2

Les couplages avec la spectrométrie de masse pour le dosage de biomarqueurs d'exposition (organiques (A) et inorganiques (B)) en biosurveillance



GC : chromatographie en phase gazeuse ; MS : spectrométrie de masse ; LC : Chromatographie en phase liquide ; ICP-MS : spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif.

d'élimination rénale du biomarqueur d'intérêt. Par exemple, certains phtalates étant éliminés par sécrétion tubulaire active, la gravité spécifique pourrait être plus appropriée que la créatinine pour corriger les concentrations en phtalates (tableau) ¹⁴.

Dans le sang, les concentrations en polluants organiques persistants sont souvent exprimées en poids total de lipides. Il existe deux approches, gravimétrique et enzymatique, pour déterminer la teneur en lipides dans le sérum et le plasma ^{15,16}. L'approche enzymatique, la plus utilisée pour le sérum, est basée sur la mesure de la somme de certaines familles lipidiques ^{17,18}. Cette approche revêt un caractère assez consensuel dans la communauté du contrôle réglementaire des matrices environnementales et alimentaires et assure globalement une bonne comparabilité des données disponibles. Elle

est en revanche plus critiquable dans le domaine du lien environnement-santé où la relation biologique complexe entre lipides et polluants lipophiles doit être prise en compte dans les analyses statistiques visant à révéler/tester des associations entre les niveaux d'exposition interne et des paramètres de santé (tableau) ¹⁹.

Concernant le cheveu, il existe de nombreux paramètres influençant l'incorporation des polluants dans cette matrice, qui peuvent varier fortement d'une substance à l'autre et d'un individu à un autre. Outre les facteurs génétiques, les principaux paramètres d'influence sont l'âge, le sexe, la couleur du cheveu et la concentration en lipides ^{20,21}. Des travaux sur la compréhension de l'influence de ces paramètres sur l'incorporation des métabolites devraient permettre à termes de normaliser les concentrations dans les cheveux. Il serait également nécessaire, comme pour l'urine ou le sang, d'identifier un ou plusieurs facteurs d'ajustement, tels que la kératine, la mélanine ou des minéraux présents dans le cheveu, afin de disposer de mesures fiables et comparables ²⁰.

Des travaux sont donc nécessaires pour clarifier les meilleures méthodologies à mettre en place, dépendantes des biomarqueurs et des objectifs des mesures, afin d'établir un cadre normatif robuste et cohérent.

Tableau 1

Méthodes de normalisation du métabolisme utilisées pour l'urine et le sang

Matrice	Méthodes de normalisation	Références
Urine	Créatinine Gravité spécifique Osmolalité	[11-13, 25-29]
Sang	Lipides totaux	[14, 28]

Conclusions

Les choix relatifs à la mise en œuvre d'une mesure optimale de biomarqueurs sont dépendants de la physico-chimie des substances considérées et de la fenêtre d'exposition étudiée, et nécessitent un travail préalable pour sélectionner la forme la plus pertinente à analyser en fonction de la matrice considérée. Toutefois le manque de données toxicocinétiques pour les substances considérées dans les programmes de biosurveillance rend encore parfois difficile la détermination du meilleur couple biomarqueur/matrice.

En ce qui concerne les méthodes analytiques, leur harmonisation ne passera pas nécessairement par une standardisation des protocoles ou des instruments utilisés, qui peuvent être propres à chaque laboratoire, mais plutôt par l'harmonisation des procédures d'évaluation des performances et des incertitudes de mesure des méthodes.

Enfin, des travaux sont encore nécessaires non seulement pour clarifier le choix quant aux meilleures méthodologies de normalisation à retenir pour l'urine et le sang en fonction du biomarqueur considéré, mais aussi pour identifier des facteurs d'ajustement pertinents pour des matrices telles que le cheveu.

Une étude reposant sur des prélèvements issus de ces différents compartiments biologiques chez les mêmes individus, en condition d'exposition « réelle », permettrait de caractériser la distribution des résidus marqueurs au sein de ces compartiments, afin de mieux documenter leur pertinence et de comparer différentes approches de normalisation et d'expression des résultats.

Au-delà des difficultés évidentes qui limitent la mise en place de ce type d'étude à large échelle (éthiques, économiques, logistiques...), une preuve de concept focalisée sur des composés représentatifs de quelques familles de xénobiotiques aux propriétés physico-chimiques variées (persistants historiques, persistants émergents, non persistants, métaux) constituerait une première approche pour produire des données contribuant à progresser sur ces questions²²⁻²⁴. ■

Liens d'intérêt

Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt au regard du contenu de l'article.

Références

- [1] Commission européenne CORDIS. Projet ESBIO (Expert team to Support Biomonitoring). [Internet]. <https://cordis.europa.eu/news/rcn/24696/fr>
- [2] Consortium to Perform Human Biomonitoring on a European Scale (COPHES). [Internet]. <http://www.eu-hbm.info/cophes>
- [3] Demonstration of a study to Coordinate and Perform Human Biomonitoring on a European Scale (DEMOCOPHES). [Internet]. <http://www.eu-hbm.info/democophes>
- [4] European Environment Agency and the European Commission. Project coordinating and advancing Human

Biomonitoring in Europe HBM4EU. [Internet]. <https://www.hbm4eu.eu/>.

- [5] Andujar P. Toxicocinétique. Paris: Diplôme inter-universitaire (DIU) de toxicologie médicale. 2017. 64 p. http://www.centres-antipoison.net/paris/DIU_Tox_Med_2017_2018/20171117/DIU_Tox_Med_2017_18_P_Andujar_Toxicocinetique.pdf
- [6] HBM4EU. Additional Deliverable 12.7. Report on optimised sampling schemes for rapidly metabolised and persistent/biocumulative substances. 2019. 25 p. [Internet]. <https://www.hbm4eu.eu/deliverables/>
- [7] Adamo C, Antignac JP, Auger J, Balaguer P, Bourc'his D, Bujan, *et al.* Reproduction et environnement. Paris: Centre d'expertise collective de l'Inserm. Les éditions Inserm; 2011. 740 p.
- [8] Qiao L, Zheng XB, Zheng J, Chen SJ, Zhong CQ, Chen JH, *et al.* Legacy and currently used organic contaminants in human hair and hand wipes of female E-Waste dismantling workers and workplace dust in South China. *Environ Sci Technol.* 2019;53(5):2820-9.
- [9] Vernet C, Philippat C, Calafat AM, Ye X, Lyon-Caen S, Siroux V, *et al.* Within-day, between-day, and between-week variability of urinary concentrations of phenol biomarkers in pregnant women. *Environ Health Perspect.* 2018;126(3):037005.
- [10] Wang YX, Feng W, Zeng Q, Sun Y, Wang P, You L, *et al.* Variability of metal levels in spot, first morning, and 24-hour urine samples over a 3-month period in healthy adult chinese men. *Environ Health Perspect.* 2016;124(4): 468-76.
- [11] Middleton DR, Watts MJ, Lark RM, Milne CJ, Polya DA. Assessing urinary flow rate, creatinine, osmolality and other hydration adjustment methods for urinary biomonitoring using NHANES arsenic, iodine, lead and cadmium data. *Environ Health.* 2016;15(1):68.
- [12] Suwazono Y, Akesson A, Alfvén T, Järup L, Vahter M. Creatinine *versus* specific gravity-adjusted urinary cadmium concentrations. *Biomarkers.* 2005;10(2-3):117-26.
- [13] Yeh HC, Lin YS, Kuo CC, Weidemann D, Weaver V, Fadzowski J, *et al.* Urine osmolality in the US population: Implications for environmental biomonitoring. *Environ Res.* 2015;136:482-90.
- [14] O'Brien KM, Upson K, Buckley JP. Lipid and creatinine adjustment to evaluate health effects of environmental exposures. *Curr Environ Health Rep.* 2017;4(1):44-50.
- [15] Bernert JT, Turner WE, Patterson DG Jr, Needham LL. Calculation of serum «total lipid» concentrations for the adjustment of persistent organohalogen toxicant measurements in human samples. *Chemosphere.* 2007;68(5):824-31.
- [16] Rylander L, Nilsson-Ehle P, Hagmar L. A simplified precise method for adjusting serum levels of persistent organohalogen pollutants to total serum lipids. *Chemosphere.* 2006;62(3):333-6.
- [17] Covaci, Voorspoels S, Thomsen C, van Bavel B, Neels H. Evaluation of total lipids using enzymatic methods for the normalization of persistent organic pollutant levels in serum. *Sci Total Environ.* 2006;366(1):361-6.
- [18] Akins JR, Waldrep K, Bernert JT Jr. The estimation of total serum lipids by a completely enzymatic 'summation' method. *Clin. Chim. Acta* 1989;184(3):219-26.
- [19] Cano-Sancho G, Labrune L, Ploteau S, Marchand P, Le Bizec B, Antignac JP. The challenging use and interpretation of circulating biomarkers of exposure to persistent organic pollutants in environmental health: Comparison of lipid adjustment approaches in a case study related to endometriosis. *Chemosphere.* 2018;200: 388-96.

- [20] Kempson IM, Lombi E. Hair analysis as a biomonitor for toxicology, disease and health status. *Chem Soc Rev.* 2011;40:3915-40.
- [21] Appenzeller BM, Tsatsakis AM. Hair analysis for biomonitoring of environmental and occupational exposure to organic pollutants: State of the art, critical review and future needs. *Toxicol Lett.* 2012;210(2): 119-40.
- [22] Xu F, Eulaers I, Alves A, Papadopoulou E, Padilla-Sanchez JA, Lai FY, *et al.* Human exposure pathways to organophosphate flame retardants: Associations between human biomonitoring and external exposure. *Environ Int.* 2019;127: 462-72.
- [23] Queipo-Abad S, González PR, Martínez-Morillo E, Davis WC, García Alonso JI. Concentration of mercury species in hair, blood and urine of individuals occupationally exposed to gaseous elemental mercury in Asturias (Spain) and its comparison with individuals from a control group formed by close relatives. *Sci Total Environ.* 2019;672:314-23.
- [24] Castaño A, Pedraza-Díaz S, Cañas AI, Pérez-Gómez B, Ramos JJ, M Bartolomé M, *et al.* Mercury levels in blood, urine and hair in a nation-wide sample of Spanish adults. *Sci Total Environ.* 2019;670: 262-70.
- [25] Schettgen T, Koch HM, Drexler H, Angerer J. New gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of urinary pyrethroid metabolites in environmental medicine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002;778(1-2):121-30.
- [26] Casas M, Basagaña X, Sakhi AK, Haug LS, Philippat C, Granum B, *et al.* Variability of urinary concentrations of non-persistent chemicals in pregnant women and school-aged children. *Environ Int.* 2018;121(Pt 1):561-73.
- [27] Chang FC, Chen CY, Lin CY, Sheen JF. A combined analytical method for biological monitoring of arsenic, benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Talanta.* 2019;198:137-45.
- [28] Haug LS, Sakhi AK, Cequier E, Casas M, Maitre L, Basagana X, *et al.* In-utero and childhood chemical exposome in six European mother-child cohorts. *Environ Int.* 2018;121(Pt 1): 751-63.
- [29] Barr DB, Olsson AO, Wong LY, Udunka S, Baker SE, Whitehead RD, *et al.* Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U.S. population: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Environ Health Perspect.* 2010;118(6):742-8.

Citer cet article

Slimani K, Mercier F, Le Bot B, Antignac JP, Bichon E, David A, *et al.* Enjeux métrologiques associés aux données de bio-surveillance. *Bull Epidémiol Hebd.* 2020;(18-19):383-9. http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2020/18-19/2020_18-19_5.html