

PARTIE B - CHAPITRE 10

ÉVALUATION BIOLOGIQUE

LIGNES DIRECTRICES 875.2600 .....	B10-1
10.1 INTRODUCTION .....	B10-1
10.2 PRÉLÈVEMENT D'ÉCHANTILLONS .....	B10-4
10.2.1 <u>Substance à l'essai</u> .....	B10-4
10.2.2 <u>Moment des applications</u> .....	B10-4
10.2.3 <u>Dose et fréquence d'application des pesticides</u> .....	B10-5
10.2.4 <u>Paramètres d'échantillonnage</u> .....	B10-5
10.2.5 <u>Techniques d'échantillonnage</u> .....	B10-6
10.2.5.1 <i>Sang</i> .....	B10-6
10.2.5.2 <i>Urine</i> .....	B10-10
10.3 ENTREPOSAGE DES ÉCHANTILLONS .....	B10-11
10.3.1 <u>Sang</u> .....	B10-11
10.3.2 <u>Urine</u> .....	B10-12
10.4 ANALYSE DES ÉCHANTILLONS .....	B10-12
10.5 CALCULS .....	B10-13
10.6 COMMUNICATION DES RÉSULTATS .....	B10-13
RÉFÉRENCES DU CHAPITRE 10 DE LA PARTIE B .....	B10-14

**PARTIE B - CHAPITRE 10**  
**ÉVALUATION BIOLOGIQUE**  
**LIGNES DIRECTRICES 875.2600**

**10.1 INTRODUCTION**

Par la mesure de la concentration des pesticides ou de leurs métabolites dans certains tissus, certains liquides corporels ou certains déchets humains (fèces ou urine), l'évaluation biologique constitue une base pour l'estimation des doses chimiques absorbées (Woollen, 1993). Les données obtenues par l'application de ces lignes directrices serviront à la réglementation de composés chimiques dans différents contextes, notamment en milieu agricole et industriel et sur le marché des produits pour usage domestique. La réglementation s'appuiera sur l'évaluation de l'exposition et des risques obtenue à partir de ces données. En outre, celles-ci peuvent être utilisées en conjonction avec des données sur la dissipation chimique dans le milieu, obtenues simultanément, afin de déterminer des coefficients de transfert correspondant à l'exposition totale. À leur tour, ceux-ci peuvent être incorporés dans le processus d'évaluation de l'exposition et des risques en vue de prévoir l'exposition associée à des activités spécifiques à partir de données sur la concentration dans le milieu, en l'absence de données sur l'exposition s'appliquant dans des scénarios précis. Le contrôle de la concentration d'un pesticide ou de ses métabolites ayant une brève demi-vie biologique (doses dans le sang) peut être approprié à la mesure de l'exposition courante ou très récente. Celui d'un pesticide ou de ses métabolites ayant une longue demi-vie biologique peut être approprié à la mesure intégrée sur une longue période (ACGIH, 1990). On doit choisir les méthodes les plus appropriées d'évaluation biologique en fonction d'une connaissance parfaite de la pharmacocinétique chez l'humain du pesticide à l'étude et selon que la technique choisie est destinée à la détermination de l'exposition récente ou de l'exposition à long terme (Woollen, 1993; Chester, 1993).

Contrairement à l'évaluation biologique, où on mesure le pesticide ou ses métabolites contenus dans des tissus humains, l'évaluation des effets biologiques (c.-à-d. l'emploi de marqueurs biologiques) a servi à détecter les signes d'une exposition à un composé chimique en mesurant une réponse biochimique, p. ex., des changements d'activité enzymatique (Chester, 1993). En d'autres mots, on estime l'exposition aux pesticides à partir d'une propriété d'un indicateur plutôt qu'à partir de la quantification directe du composé chimique. Ce genre d'évaluation ne donne pas de mesure directe de la dose absorbée, mais peut donner une indication des possibilités que se manifestent des effets nocifs. La dose ne peut pas être estimée si la corrélation entre l'exposition et la réponse biochimique n'est pas bien élucidée.

L'évaluation des effets biologiques est employée depuis longtemps dans le contexte du milieu de travail. Des chercheurs (Tannenbaum and Skipper, 1984; Pereira and Chang, 1982; Popendorf, 1992) ont signalé l'existence de corrélations entre le degré d'exposition à divers composés chimiques industriels et à leurs composés d'addition covalents formés entre le composé ou de certains de ses métabolites, et l'hémoglobine. Il existe des cas précis de produits industriels où cette approche a réussi, notamment l'oxyde d'éthylène (Calleman *et al.*, 1978), le chloroforme (Pereira and Chang, 1982) et l'aniline (Neumann, 1984). La dose sanguine en cholinestérase comme indicatrice de l'exposition de travailleurs à des pesticides organophosphatés est un exemple de l'application de l'évaluation des effets biologiques aux pesticides (Peoples and Knaak, 1982; ACGIH, 1990). Les tentatives d'établir des corrélations entre l'inhibition de la cholinestérase et les concentrations de pesticides, de leurs métabolites ou encore de composés analogues dans le sang n'ont généralement pas été couronnées de succès (Bradway *et al.*, 1977; Roan *et al.*, 1969; Drevenkar *et al.*, 1983), du fait de l'importante variabilité de la dose en cholinestérase d'une personne à l'autre (Popendorf and Leffingwell, 1982). Puisque l'évaluation des effets biologiques ne conduit pas encore à l'obtention d'estimations chiffrées de l'exposition à des pesticides, ce chapitre portera essentiellement sur l'évaluation biologique des pesticides et de leurs métabolites dans les tissus ou les fluides humains.

L'analyse du sang et l'analyse d'urine sont les types d'analyses les plus couramment employés pour l'évaluation biologique exercée sur les pesticides. L'analyse du sang sert à mesurer une exposition récente ou dans le moment présent. Elle n'est toutefois pas très usitée car sa méthode de prélèvement d'échantillons est invasive. L'analyse d'urine sert à mesurer l'élimination d'un pesticide, de ses métabolites ou d'analogues comme indicatrice de l'exposition. Il y a près de quatre décennies qu'on se fie à la présence de la substance initiale ou de métabolites connus dans l'urine comme indicatrice de l'exposition à de nombreux pesticides, notamment le paraquat (Swan, 1969), l'arsenic (Gollop and Glass, 1979; Wagner and Weswig, 1974), le parathion (Lieben *et al.*, 1953), le chlorobenzilate (Levy *et al.*, 1981), les phytohormones de synthèse (ou du type phénoxy) (Kolmodin-Hedman *et al.*, 1983) et les pesticides organophosphatés (Kutz and Strassman, 1977; ACGIH, 1990). Dans le cadre de récentes études, Dong *et al.* (1996) ont combiné les analyses d'urine à un modèle pharmacocinétique pour simuler les doses de malathion chez des personnes exposées à ce pesticide par pulvérisation aérienne; Krieger *et al.* (1996) ont évalué la clearance rénale de l'octaborate disodique tétrahydraté, un produit anti-puce, appliqué aux moquettes et au mobilier. En plus de servir d'indicateurs de l'exposition, les métabolites urinaires ont permis de confirmer des cas d'intoxication aux pesticides, notamment aux organophosphatés et aux carbamates (Davies *et al.*, 1979). Les auteurs de telles études signalent la relation entre une exposition et la présence des pesticides, de leurs métabolites ou d'analogues dans l'urine. Le plus souvent, toutefois, il a été impossible de quantifier l'exposition de manière précise à partir de ces données, en partie faute de bien connaître la pharmacocinétique des pesticides. C'est pourquoi nous insistons sur le fait qu'il faut connaître

à fond le métabolisme chez l'humain et la pharmacocinétique des pesticides à l'étude pour que l'évaluation biologique soit une technique utile à l'estimation des doses. Il est aussi possible de contrôler les pesticides, leurs métabolites ou des analogues par analyse des fèces même si, en comparaison, il existe peu d'articles traitant de cette technique. L'analyse de la sueur a du potentiel comme moyen d'évaluation biologique, mais les risques de contamination par la peau des travailleurs constitue un obstacle important. L'analyse de l'haleine a une utilité limitée dans les cas d'exposition très récente à des pesticides non polaires volatils, particulièrement certains fumigants (Wilson, 1986). Pour des raisons méthodologiques et pour sa facilité d'emploi, on mettra l'accent sur la mesure de l'élimination des pesticides dans l'urine. L'urine constitue une matrice d'échantillonnage idéale car les prélèvements d'échantillons sont relativement simples et ne sont pas invasifs.

NOTA : On peut obtenir de l'information additionnelle sur l'évaluation biologique en NIOSH 1984. *NIOSH Manual of Analytical Methods*. National Institute of Occupational Safety and Health, Cincinnati, Ohio.

L'EPA n'exige pas automatiquement la présentation de données d'évaluation biologique. Cependant, lorsqu'un chercheur croit que les critères d'évaluation biologique mentionnés ci-après peuvent être respectés dans le cas d'un pesticide donné et qu'il choisit de contrôler l'exposition des travailleurs de cette façon, l'EPA évaluera les résultats et, s'ils sont jugés acceptables, les incorporera dans le processus d'évaluation des risques. Il doit exister des données pharmacocinétiques adéquates, afin que les résultats soient bien interprétés, pour qu'un chercheur puisse réaliser une étude d'évaluation biologique. Avant de se lancer dans son étude, le chercheur doit faire approuver le protocole de cette étude par l'EPA.

Les chercheurs peuvent considérer les études d'évaluation biologique à titre de solutions de remplacement de la dosimétrie passive, sur des emplacements situés à l'extérieur comme à l'intérieur de locaux, et les proposer comme telles, lorsque le premier critère suivant est respecté. L'EPA peut exiger la tenue de ces études d'évaluation biologique pour un pesticide donné lorsque les deux critères suivants sont respectés :

Critère 1 - La pharmacocinétique d'un pesticide, de ses métabolites ou de composés analogues (peu importe la forme choisie comme indicateur de la dose absorbée ou de la charge dans l'organisme) chez l'humain est assez bien connue pour qu'il soit possible de déterminer la dose réelle par inférence.

Critère 2 - Il est déterminé que les techniques de dosimétrie passive ne sont pas applicables à un scénario d'exposition donné (p. ex., dans le cas de pesticides très volatils tels que certains fumigants ou dans le cas d'immersion prolongée ou de saturation de la peau par un pesticide non volatil).

Les pesticides qui sont absorbés rapidement et qui ne sont pas séquestrés ou métabolisés dans une grande mesure sont ordinairement de bons candidats à l'évaluation biologique (Ritter and Franklin, 1989). C'est le cas aussi des pesticides pour lesquels il est possible d'établir une relation quantitative entre l'exposition et des métabolites urinaires (Ritter and Franklin, 1989). Par contre, ceux qui sont considérablement métabolisés en un grand nombre de métabolites ou ceux qui sont retenus en bonne partie dans la peau ne sont peut-être pas de bons candidats (Chester, 1993). Enfin, il ne faut pas penser à l'évaluation biologique si la pharmacocinétique n'est pas bien caractérisée chez l'humain.

## **10.2 PRÉLÈVEMENT D'ÉCHANTILLONS**

Cette section explique comment obtenir des échantillons dans les emplacements souhaitables. Consulter le chapitre 2, Conception de l'étude, de la partie B pour des renseignements sur les facteurs à considérer dans le choix d'emplacements d'échantillonnage, et la partie C, AQ/CQ, pour des détails sur la façon d'assurer l'intégrité des données présentées.

### **10.2.1 Substance à l'essai**

Tel qu'indiqué en 40 CFR 158.390, la substance à l'essai pour les mesures de l'exposition doit être une préparation commerciale ordinaire. Lorsque des métabolites, des composés de transformation ou des contaminants de préparations commerciales de pesticides sont à la source de préoccupations d'ordre toxicologique, les chercheurs doivent envisager de procéder à des échantillonnages précisément en fonction de ces composés.

### **10.2.2 Moment des applications**

Le prélèvement d'échantillons doit se dérouler pendant la saison où le pesticide doit normalement être utilisé ou dans des conditions climatiques essentiellement identiques à celles observées pendant cette saison. On doit étudier les prévisions météorologiques pour éviter d'entreprendre les essais juste avant (p. ex., 24 h avant) des précipitations. Pour d'autres renseignements sur les facteurs climatiques, consulter le chapitre 2, Conception de l'étude, de la partie B.

### **10.2.3 Dose et fréquence d'application des pesticides**

En général, la préparation commerciale choisie pour l'étude doit être appliquée à la dose maximale spécifiée sur l'étiquette. De plus, il est suggéré d'appliquer aussi le produit à moindre dose si possible. Par exemple, on emploie souvent la dose ordinaire pour les évaluations de la cancérogénicité (U.S. EPA, 1997). L'évaluation exercée à plus d'une dose apporte un complément d'information sur le rapport entre la dose et les dépôts. En outre, les essais effectués à une dose moins élevée peuvent être utiles s'il advenait que la dose maximale conduirait à un risque inacceptable.

Lorsque des applications multiples sont recommandées, on doit prendre les intervalles entre les applications les plus rapprochés possibles. En outre, on doit examiner la question de l'accumulation possible de résidus attribuable à des applications multiples. La méthode d'application et l'équipement typiquement utilisés avec la substance à l'essai doivent être employés.

### **10.2.4 Paramètres d'échantillonnage**

- On doit produire un nombre d'échantillons répétés assez élevé pour régler les problèmes liés à l'exposition qui concernent chacune des populations en question. En général, toutes les études doivent comprendre au moins 15 échantillons répétés par activité. Dans la mesure du possible, ils doivent être répartis comme suit : 5 échantillons répétés (c.-à-d. personnes) pour chacune de trois périodes d'évaluation (c.-à-d. « n » jours après le traitement). Les chercheurs doivent faire preuve de souplesse quant au nombre et à la répartition (emplacements et intervalles après le traitement) des échantillons répétés. Puisque ces directives ne peuvent pas s'appliquer à tous les scénarios possibles, l'EPA demande aux chercheurs de lui soumettre leurs protocoles pour qu'elle puisse les examiner avant que les études ne commencent.
- La période d'évaluation de l'exposition doit être suffisamment longue et la méthode d'analyse assez sensible pour faire en sorte que chacune des activités surveillées a été suffisamment évaluée. Les volumes minimaux d'échantillons et les limites de dosage doivent correspondre à des effets toxicologiques pertinents. Voir la partie C - AQ/CQ, pour une analyse de la détermination de limites de quantification appropriées. L'activité étudiée doit être bien définie et représentative des pratiques normales. La plupart des activités après l'application vont d'une durée de 4 heures (p. ex., tondre la pelouse ou entretenir le jardin) à 8 heures (p. ex., cueillette de fraises). Bref, il est recommandé de prendre une durée d'évaluation conforme aux activités ordinaires pour toutes les observations répétées. On doit fournir, dans les protocoles des études, la justification du choix de la durée de ces périodes.

- L'évaluation biologique doit être réalisée de pair avec les études sur le résidu transférable. Consulter les chapitres appropriés pour des directives sur les types et le nombre d'échantillons de résidus transférables qui conviennent.
- Les emplacements et les saisons d'évaluation doivent être choisis en fonction de l'activité. On doit considérer la possibilité de devoir procéder à des études dans différentes conditions géographiques ou climatiques.
- Lorsqu'il est approprié de procéder à l'évaluation biologique de pair avec l'évaluation de personnes par dosimétrie passive, on doit s'assurer, à l'étape de la conception de l'étude, que les méthodes utilisées avec une technique d'évaluation n'invalident pas celles de l'autre (p. ex., le lavage répété des mains au cours d'une période d'évaluation ou le port de plusieurs épaisseurs de vêtements peuvent réduire la quantité du résidu de pesticide qui pourrait être absorbé).
- On doit effectuer l'évaluation avant que le résidu ne se soit dissipé au point de ne plus être quantifiable.

### **10.2.5 Techniques d'échantillonnage**

Les techniques d'évaluation biologique décrites dans cette partie des lignes directrices comprennent la mesure des pesticides et de leurs métabolites dans le sang et dans l'urine. Même si l'EPA accepte les deux techniques, l'analyse de l'urine est la technique qu'elle préconise parce que les échantillons sont assez facilement prélevés, que cette technique n'est pas invasive et que sa biocinétique est plus stable. La technique proposée d'évaluation biologique doit être soumise, dans le cadre du protocole, à l'examen de l'EPA qui doit l'approuver avant le commencement des travaux.

#### **10.2.5.1 *Sang***

Du fait que des expositions antérieures à certains pesticides peuvent avoir un effet marqué sur les doses sanguines, il faut prendre des échantillons de référence du sang de chaque participant avant que ces derniers ne soient exposés. Il faut tracer un court historique de chacun des participants, décrivant les expositions antérieures connues (au moins 2 semaines) aux pesticides, notamment le retour sur des champs susceptibles d'avoir été traités (ACGIH, 1990).

L'échantillonnage des pesticides ou de leurs métabolites dans le sang doit être effectué de manière à tenir compte des facteurs énumérés au tableau 10-1. On peut prélever du sang veineux ou du

sang capillaire sur les doigts ou sur le lobe d'oreille, sauf que le sang capillaire ne constitue pas une matrice acceptable lorsqu'il faut prélever plus de 0,5 mL de sang pour conférer à la méthode une sensibilité suffisante (c.-à-d. parvenir à une limite de quantification assez faible pour être significative) lorsque le composé à analyser existe dans l'environnement où les échantillons sont collectés (par crainte d'une contamination de l'extérieur) ou lorsqu'on dose des composés volatils contenus dans un spécimen (par crainte de pertes par évaporation) (ACGIH, 1990). Le sang veineux doit être recueilli dans des tubes scellés. Dans le cas de pesticides ou de métabolites volatils, il faut appliquer des procédures spéciales afin de réduire l'espace libre dans les tubes, où peut se perdre une partie du pesticide. Lorsque cet espace existe, avec des résidus de pesticides volatils, il faut analyser son contenu dans une opération distincte de l'analyse du sang.

Pour chaque 10 mL de sang non coagulé, le tube recevant l'échantillon doit contenir un des anticoagulants suivants, désigné après consultation du laboratoire : 20 mg d'oxalate de potassium ou d'oxalate de sodium, 50 mg de citrate de sodium, 15 mg d'EDTA disodique ou 2 mg d'héparine. Au moment du choix, on doit tenir compte de la possibilité qu'un anticoagulant réagisse avec les substances à analyser. L'anticoagulant retenu doit avoir été dispersé également dans le tube et laissé à sécher. Immédiatement après le prélèvement de l'échantillon, faire tourner délicatement le tube entre les doigts pour bien mélanger le sang et l'anticoagulant. On peut trouver sur le marché différents dispositifs de prélèvement du sang. Les chercheurs doivent se conformer soigneusement aux instructions et aux protocoles des fabricants de ces produits (p. ex., les tubes vacutainer). On doit tenir compte des risques que la substance à analyser soit adsorbée sur la seringue et la paroi des tubes.

**PARTIE B - LIGNES DIRECTRICES**  
**Évaluation biologique (L.d. 875.2600)**

Tableau 10.1. Facteurs méthodologiques du prélèvement, de l'entreposage et de l'analyse du sang et de l'urine.

<b>Facteur</b>	<b>Sang</b>	<b>Urine</b>
	<b>PRÉLÈVEMENT</b>	
Déterminants appropriés	N'importe lequel	N'importe lequel (mais convient mieux aux déterminants polaires)
Caract. du spécimen	Sang entier, plasma, sérum, cellules, sang coagulé	Heures de prélèvement notées
Méthode invasive?	Invasive	Non invasive
Période de prélèvement	Instantané	Court terme (24 h à plusieurs jours)
Qualifications spéciales du personnel de santé	Personnel médical requis pour les prélèvements	Formation minimale requise
Protection contre les infections	Aiguille stérile	Récipient propre
Récipient requis	Avec anticoagulant	À grande ouverture
	Fait d'un matériau inerte et n'absorbant pas le déterminant	
Volume	Selon la méthode	Partie aliquote d'au moins 50 mL provenant d'un échant. de 24 h
Précautions	Il faut calculer le moment de prélèvement des échant.	
	Sang veineux de préférence (plutôt que le sang capillaire, qui convient dans des conditions particulières seulement); anticoagulant approprié; seringue sèche	Échantillons obtenus uniquement de sujets ayant un fonctionnement rénal normal
Sources possibles de contamination	Exposition à la peau, solutions nettoyantes, seringue, aiguille, anticoagulant	Contamination croisée par les mains, les cheveux, les vêtements exposés (le prélèvement après la douche et le changement de vêtements est préférable)
Dangers pour la santé	Hépatite, VIH <sup>a</sup>	Minime <sup>b</sup>
<b>TRANSPORT ET ENTREPOSAGE</b>		
Sources potentielles de contamination	Récipient	

**PARTIE B - LIGNES DIRECTRICES**  
**Évaluation biologique (L.d. 875.2600)**

Facteur	Sang	Urine
Sources de détérioration	Hémolyse, décomposition bactérienne, éclaircissement	Décomposition bactérienne, éclaircissement
Autres questions liées au transport	Basses températures requises	Grand volume et poids des échantillons
Température d'entreposage	Du réfrigérateur ou du congélateur (après le fractionnement du sérum et du plasma)	Du réfrigérateur ou du congélateur
<b>ANALYSE</b>		
Procédure de nettoyage	Complexe	Réduite
Interférences possibles	Fixation aux protéines, conjugaison, formation de complexes (intensité des effets variable selon la méthode d'analyse)	
Méthode	Sensible et spécifique	
<b>DÉTERMINANTS EXIGEANT DES CONSIDÉRATIONS PARTICULIÈRES</b>		
Substance initiale	Éviter la contamination pendant l'échantillonnage	
Composés volatils	Employer des récipients hermétiques et ayant un espace libre de volume déterminé	

- <sup>a</sup> Le personnel responsable du prélèvement et de la manutention du sang humain est visé par les dispositions du règlement de l'OSHA sur les pathogènes du sang, 29 CFR 1910.1030.
- <sup>b</sup> Normalement, l'urine ne contient pas de sang; elle n'est donc pas couverte par le règlement de l'OSHA sur les pathogènes du sang, 29 CFR 1910.1030. Cependant, il est suggéré de prendre des précautions à cause du risque que des cellules sanguines se trouvent dans l'urine, dont la présence serait attribuable à différentes fractions pathogènes présentes chez certains participants.

Source : ACGIH, 1990.

En outre, il faut adopter un certain nombre de précautions relativement à l'évaluation par prélèvements sanguins : 1) le personnel médical doit prendre les précautions nécessaires pour assurer sa propre protection et celle des participants contre les agents infectieux (comme le VIH); 2) il ne faut pas prélever d'échantillons à partir de places sur le corps dont on sait qu'elles sont contaminées (p. ex., par suite du renversement du produit sur la peau); 3) avant un prélèvement sanguin, le point d'échantillonnage (p. ex., bras, doigt) doit être lavé avec une solution d'eau et de détergent ou de l'alcool isopropylique, et doit être asséché; 4) on doit prendre les précautions qui s'imposent pour éviter que d'autres composés chimiques ne contaminent l'échantillon; 5) à l'étape de l'analyse, les échantillons doivent être bien mélangés avant le prélèvement d'une partie aliquote pour éviter l'introduction d'erreurs attribuables à la

sédimentation; 6) les analyses doivent tenir compte du fait que certains déterminants peuvent être présents à l'état libre, sous forme conjuguée ou fixés à des protéines (il se peut que les échantillons soumis à une analyse des déterminants totaux aient à subir au préalable une hydrolyse acide ou enzymatique) (ACGIH, 1990).

#### **10.2.5.2**      *Urine*

L'exposition antérieure au pesticide à l'étude ou à des composés structurellement apparentés peut interférer avec les résultats des analyses d'urine effectuées dans le cadre d'une étude d'évaluation biologique. Par conséquent, on doit faire en sorte de laisser s'écouler un temps suffisant entre ces expositions et le moment de la participation à une étude; on s'assure ainsi, à partir de données pharmacocinétiques, que la clearance rénale du composé et de ses métabolites est assez complète.

L'échantillonnage de pesticides, de leurs métabolites ou de composés analogues dans l'urine se fait de manière à tenir compte des facteurs énumérés au tableau 10-1. Les prélèvements d'urine doivent se faire par périodes de 24 heures. Ils doivent commencer la veille des activités d'évaluation de l'exposition après l'application, et se poursuivre le jour-même du traitement et pendant un certain temps après, en fonction de la vitesse d'excrétion du composé. Le cycle de prélèvements sur 24 heures doit commencer avec la première miction après le commencement du travail et se terminer avec la première miction le lendemain matin. Ce cycle doit être maintenu au cours des jours suivants. Tous les prélèvements d'échantillons d'urine doivent être consignés au moment-même. On doit fournir aux sujets des récipients qui se ferment bien (pour éviter les renversements) d'une contenance d'environ 500 mL par période de 6 heures, ou leur fournir un plus grand récipient pour toute la période de 24 heures. On doit avoir rincé les récipients au moyen d'un solvant approprié ou les avoir chauffés à 250 °C (s'ils sont en verre) pendant une heure ou deux, pour empêcher la contamination.

La matière dont les récipients sont faits ne doit pas interférer avec le dosage de la substance à analyser (on pense à l'absorption, p. ex.). Les récipients peuvent être faits de polypropylène, de polyéthylène ou de verre. Les bouchons doivent être faits d'une matière inerte comme le polytétrafluoroéthylène (PTFE). On doit prendre des dispositions spéciales pour le prélèvement d'échantillons destinés à la mesure de composés chimiques volatils. Lorsqu'on emploie un plus grand récipient de contenance connue, le laboratoire doit échantillonner et analyser le liquide et l'atmosphère qui occupe l'espace libre. Dans tous les cas, les échantillons doivent être prélevés dans des récipients qui peuvent être immédiatement fermés de façon hermétique. Les récipients doivent pouvoir résister aux variations de pression attribuables aux changements de température pendant le transport et l'entreposage. Pour le choix des récipients, toujours, on doit aussi penser à la sensibilité à la lumière des substances à

analyser (si elles se décomposent à la lumière, on peut employer des bouteilles de verre ambré). Compte tenu de la stabilité de la substance à analyser à la température au champ, les échantillons peuvent être réfrigérés ou encore refroidis par d'autres méthodes pour préserver leur intégrité. On ajoute des agents de conservation, au besoin, dans la mesure où ils n'interfèrent pas avec le dosage de la substance à analyser.

Une fois complété le prélèvement d'urine sur 24 heures, le volume d'urine doit être mesuré et deux parties aliquotes d'au moins 50 mL doivent être prélevées et entreposées en fonction des conditions imposées par la méthode d'analyse. L'un de ces échantillons peut être transporté jusqu'au laboratoire pour l'analyse, l'autre être conservé sur place à l'état congelé au moins jusqu'à l'arrivée de l'autre au laboratoire. Le choix de ces nouveaux récipients répond aux mêmes critères que ceux appliqués au choix des récipients au champ.

### **10.3 ENTREPOSAGE DES ÉCHANTILLONS**

On doit transporter les échantillons jusqu'au laboratoire et les entreposer jusqu'à l'analyse. Il faut les transporter sur de la glace sèche ou sur de la glace ordinaire, selon le cas, afin d'atténuer le plus possible la dissipation de la substance à analyser. Au laboratoire, il faut les entreposer tel qu'indiqué ci-après. À cause de la nature et des propriétés diverses des indicateurs possibles de l'évaluation biologique, il se peut que certaines des substances à analyser aient un comportement inhabituel lorsqu'on applique les présentes directives de transport et d'entreposage. Lorsque les chercheurs s'écartent de ces directives à cause des caractéristiques physico-chimiques de la substance à analyser, il faut en fournir la justification dans toute demande adressée à l'EPA.

Lorsque les substrats d'échantillonnage biologique doivent être entreposés après l'exposition, on doit procéder à une étude de stabilité des substances à analyser, et en faire rapport, en respectant les mesures de précaution pour l'entreposage de substrats spécifiques, comme noté ci-dessous. Consulter la partie C, AQ/CQ, pour d'autres renseignements sur les procédures de réalisation d'une étude sur la stabilité. Essentiellement, des substrats enrichis doivent être entreposés dans les mêmes conditions que celles s'appliquant aux échantillons sur le terrain. De plus, les échantillons pour la stabilité à l'entreposage doivent être manipulés et analysés de la même façon que les échantillons prélevés sur le terrain.

#### **10.3.1 Sang**

Dans tous les cas, les échantillons sanguins doivent être agités et leur température varier le moins possible pendant le transport et l'entreposage afin de limiter l'hémolyse le plus possible (ACGIH, 1990). S'il faut analyser le sérum, il faut laisser le sang veineux coaguler dans des récipients de prélèvement non

traités aux anticoagulants. Le caillot doit être extrait au bout d'une dizaine de minutes après le prélèvement et le sérum doit être prélevé au moyen d'une seringue (ACGIH, 1990). On ne doit jamais congeler le sang entier; pour l'entreposage temporaire, la réfrigération à 4 °C suffit ordinairement. Pour de plus grandes périodes, il faut centrifuger les échantillons et extraire le plasma, qui sera entreposé. Les blancs d'échantillon sur le terrain et les autres témoins appropriés (p. ex., échantillons enrichis sur le terrain) doivent être inclus dans l'analyse (ACGIH, 1990).

### **10.3.2 Urine**

Tous les échantillons d'urine doivent être congelés pour leur entreposage après la mesure de la densité.

## **10.4 ANALYSE DES ÉCHANTILLONS**

Le choix des méthodes d'analyse dépend du composé ou du métabolite à l'étude. Par conséquent, c'est au chercheur de prendre cette décision.

On doit bien mélanger les échantillons d'urine prélevés sur 24 heures avant d'en prélever des parties aliquotes en vue des analyses chimiques. Le chercheur doit déterminer la concentration de la créatinine pour évaluer qualitativement si les échantillons sont complets. Les corrections apportées en vue d'ajuster la concentration urinaire de résidu en fonction de la dose urinaire en créatinine, dans les échantillons incomplets, ont peu d'utilité compte tenu des grands écarts dans la production de créatinine entre les personnes et pour de mêmes personnes (Alessio *et al.*, 1985; Boeniger *et al.*, 1993). C'est pourquoi l'EPA ne préconise pas l'emploi quantitatif de la créatinine comme moyen d'ajuster le calcul de la production du résidu dans l'urine. On peut mesurer la dose en créatinine grâce à une méthode colorimétrique appelée réaction de Jaffe (Boeniger *et al.*, 1993). La densité, prise aussi comme moyen d'évaluer si les échantillons de 24 heures sont complets (Alessio *et al.*, 1983), s'obtient au moyen d'un densitomètre; il faut effectuer cette analyse le plus tôt possible après le prélèvement (et avant l'entreposage) avant qu'il ne se produise une sédimentation irréversible des solides. La plupart des laboratoires cliniques peuvent effectuer ces deux analyses à faible coût. Lorsque la concentration en créatinine ou que la densité est faible au point de constituer une impossibilité physiologique, il faut considérer que les échantillons ont été altérés et il faut les mettre de côté ou être utilisés, mais avec une note explicative en bas de page.

## **10.5 CALCULS**

Consulter la partie D de ce document pour une description des calculs nécessaires à l'estimation des taux de dissipation, de l'exposition et du risque.

## **10.6 COMMUNICATION DES RÉSULTATS**

On doit signaler la quantité du composé chimique dans chaque échantillon et en donner le total cumulé pour chaque période d'exposition. Les données sur le résidu doivent être communiquées électroniquement sous forme de tableau (chiffriers). Dans la mesure du possible, les données sur la distribution doivent être communiquées.

**RÉFÉRENCES DU CHAPITRE 10 DE LA PARTIE B**

- ACGIH. (1990) Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists.
- Alessio, L.; Berlin, A.; Dell'Orto, A.; Toffoletto, F.; Ghezzi, I. (1985) Reliability of Urinary Creatinine as a Parameter Used to Adjust Values of Urinary Biological Indicators. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 55:99-106.
- Boeniger, M.F.; Lowry, L.K.; Rosenberg, J. (1993) Interpretation of Urine Results Used to Assess Chemical Exposure with Emphasis on Creatinine Adjustments: A Review. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 54(10):615-627.
- Bradway, D.E.; Shafik, T.M.; Lores, E.N. (1977) Comparison of Cholinesterase Activity, Residue Levels, and Urinary Metabolite Excretion of Rats Exposed to Organophosphorus Pesticides. *J. Agr. Food Chem.* 25(6):1353-1358.
- Calleman, C.J.; Ehrenberg, L.; Jansson, B.; Osterman-Golkar, S.; Segerback, D.; Svenson, K.; Wachtmeister, C.A. (1978) Monitoring and Risk Assessment by Means of Alkyl Groups in Hemoglobin in Persons Occupationally Exposed to Ethylene Oxide. *J. Environ. Path. Toxicol.* 2:427-442.
- Chester, G. (1993) Evaluation of Agricultural Worker Exposure to, and Absorption of, Pesticides. *Ann. Occup. Hyg.* 37:509-523.
- Davies, J.E.; Enos, H.F.; Barquet, A.; Morgade, C.; Danauskas, J.X. (1979) Developments in Toxicology and Environmental Science. Pesticide Monitoring Studies. The Epidemiologic and Toxicologic Potential of Urinary Metabolites. In: *Toxicology and Occupational Medicine.* W.B. Deichman, ed. NY. pp. 369-380
- Dong, M.H.; Ross, J.H.; Thongsinthusak, T.; Krieger, R.I. (1996) Use of Spot Urine Sample Results in Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Absorbed Malathion Doses in Humans. In: *Biomarkers for Agrochemicals and Toxic Substances.* Washington, D.C.: American Chemical Society.
- Drevenkar, V.B.; Stengl, B.; Tkalcovic, B.; Vasilic, Z. (1983) Occupational Exposure Control by Simultaneous Determination of N-methylcarbamates and Organophosphorus Pesticide Residues in Human Urine. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 14:215-230.

Gallop, B.R.; Glass, W.I. (1979) Urinary Arsenic Levels in Lumber Treatment Operators. *N.Z. Med. J.* 89:10-11.

Kolmoden-Hedman, B.; Hoglund, S.; Swenson, A.; Okerblom, M. (1983) Studies on Phenoxy Acid Herbicides. II. Oral and dermal uptake and elimination in urine of MCPA in humans. *Arch. Toxicol. Contam.* 54:267-273.

Krieger, R.I.; Dinoff, T.M.; Peterson, J. (1996) Human Disodium Octaborate Tetrahydrate Exposure Following Carpet Flea Treatment is Not Associated with Significant Dermal Absorption. *J. Exp. Anal. Environ. Epid.* 6(3):279-288.

Kutz, F.W.; Strassman, S.C. (1977) Human Urinary Metabolites of Organophosphate Insecticides Following Mosquito Adulticiding. *Mos. News.* 37(12):211-218.

Levy, K.A.; Brady, S.S.; Pfaffenberger, C.D. (1981) Chlorobenzilate Residues in Citrus Worker Urine. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 27(2):235-238.

Lieben, J.R.; Waldman, K.; Krause, L. (1953) Urinary Excretion of Paranitrophenol Following Exposure to Parathion. *Ind. Hyg. Occ. Med.* 7:93-98.

Neumann, H. (1984) Analysis of Hemoglobin as a Dose Monitor for Alkylating and Arylating Agents. *Arch. Toxicol.* 56:1-6.

NIOSH. (1984) NIOSH Manual of Analytical Methods. National Institute of Occupational Safety and Health, Cincinnati, Ohio.

Peoples, S.A.; Knaak, J.B. (1982) Monitoring Pesticide Blood Cholinesterase and Analyzing Blood and Urine for Pesticides and Their Metabolites. In: *Pesticide Residue and Exposure*, J.R. Plimmer, ed. ACS Symposium Series, No. 182, American Chemical Society, Washington, DC, pp. 41-57.

Pereira, M.A.; Chang, L.W. (1982) Hemoglobin Binding as a Dose Monitor for Chemical Carcinogens. In: *Bradway Report 13, Indicators of Genotoxic Exposure*, B.A. Bridges, B.E. Butterworth, and I.B. Weinstein, eds., Cold Spring Harbor Laboratory, pp. 177-187.

Popendorf, W.; Leffingwell, J.T. (1982) Regulating Organophosphate Pesticide Residues for Farmworker Protection. *Residue Rev.* 85:125-201.

Popendorf, W. (1992) Reentry Field Data and Conclusions. *Reviews Environ. Contam. Toxicol.* 128:71-117.

Ritter, L.; Franklin, C.A. (1989) Use of Biological Monitoring in the Regulatory Process. In: *Biological Monitoring for Pesticide Exposure*. ACS Symp, Series 382, American Chemical Society, Washington, DC.

Roan, C.C.; Morgan, D.P.; Cook, N.; Paschal, E.H. (1969) Blood Cholinesterases, Serum Parathion Concentrations and Urine p-Nitrophenol Concentrations in Exposed Individuals. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 4:362-369.

Swan, A.A.B. (1969) Exposure of spray operators to paraquat. *Brit. J. Ind. Med.* 26:322-329.

Tannenbaum, S.R.; Skipper, P.L. (1984) Biological Aspects to the Evaluation of Risk: Dosimetry of Carcinogens in Man. *Fund. Appl. Toxicol.* 4:S367-S373.

U.S. EPA. (1997) Standard Operating Procedures (SOPs) for Residential Exposure Assessments, draft report. Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs.

Wagner, S.L.; Weswig, P. (1974) Arsenic in Blood and Urine of Forest Workers. *Arch. Environ. Hlth.* 28:77-79.

Wilson, H.K. (1986) Breath Analysis: Physiological Basis and Sampling Techniques. *Scand. J. Work Environ. Health* 12: 174-192.

Woollen, B.H. (1993) Biological Monitoring for Pesticide Absorption. *Am. Occup. Hyg.* 37:525-540.