

## **Accord cadre n° 2025-32**

**Lot 2 : Dosages des métabolites du Folpel dans des échantillons d'urine collectés dans les études de biosurveillance de Santé publique France**

### **Cahier des clauses techniques particulières (CCTP)**

Interlocuteurs scientifiques : Laura Chaperon, Marie Pécheux, Clémence Fillol

Interlocuteurs administratifs et financiers : Malika Lounici, Karine De Proft

## TABLE DES MATIERES

Préambule .....	4
1. Description générale de l'étude .....	4
1.1 Présentation de Santé publique France .....	4
1.2 Présentation du PNBS .....	4
1.3 Présentation de l'étude Albane .....	5
Contexte .....	5
Objectifs de l'enquête .....	5
Type d'étude et organisation .....	6
Périodes d'enquête et couverture géographique .....	6
Population cible de l'enquête Albane .....	6
Effectifs attendus de participants au volet surveillance biologique par cycle .....	7
1.4 Etude d'imprégnation en raison d'un contexte local ou de problématiques spécifiques .....	7
2. Description des prestations attendues .....	7
2.1 Résumé de la prestation .....	7
2.2 Liste détaillée des biomarqueurs à analyser .....	8
2.3 Niveaux observés en population générale .....	8
2.4 Organisation de la prestation .....	9
2.5 Nature des échantillons .....	9
2.6 Estimation du nombre d'échantillons collectés .....	10
2.7 Conditions de transport .....	10
2.8 Réception des échantillons .....	10
2.9 Etiquetage d'identification .....	11
2.10 Conservation des échantillons .....	11
2.11 Conditions de manipulation des échantillons .....	12
2.12 Destruction des échantillons .....	12
2.13 Hygiène - Sécurité .....	12
3. Exigences analytiques pour l'exécution de la prestation .....	12
3.1 Prescriptions concernant la méthode et procédures d'analyse .....	12
3.2 Prescriptions concernant la manipulation des échantillons .....	13
3.3 Prescriptions concernant les limites de détection et de quantification .....	14
3.4 Prescriptions concernant la validation des résultats .....	14
a. Calibration et étalonnage .....	14
b. Matériaux de référence .....	15

c.	Blancs .....	15
d.	Contrôles de qualité internes (règles de Westgard/cartes de contrôle) .....	15
3.5	Rendu des résultats .....	15
4.	Confidentialité.....	16

## **PREAMBULE**

### **Nom et adresse officiels du pouvoir adjudicateur :**

#### **Santé publique France, agence nationale de santé publique**

12 rue du Val d'Osne

TSA 50459

94415 Saint Maurice Cedex

Tel : 01 41 79 67 00

Etablissement public administratif sous tutelle du ministère chargé de la Santé, Santé publique France a été créée par le décret n° 2016-523 du 27 avril 2016 et fait partie de la loi de modernisation du système de santé (loi n°2016-41 du 26 janvier 2016).

## **1. DESCRIPTION GENERALE DE L'ETUDE**

### **1.1 Présentation de Santé publique France**

Santé publique France, l'agence nationale de santé publique, est un Etablissement public national à caractère administratif, créé par l'ordonnance n° 2016-462 du 14 avril 2016 et le décret n°2016-523 du 27 avril 2016.

L'agence répond au besoin de créer en France un centre de référence en santé publique, assurant un continuum de la connaissance scientifique à l'intervention. Sept principes fondent l'action de l'agence :

- l'excellence scientifique et l'expertise collective
- l'indépendance et la transparence des avis et recommandations
- la présence sur tout le territoire national
- le fonctionnement en réseau
- le travail en partenariat
- l'ouverture aux parties prenantes et à la société civile
- la force d'intervention.

Pour plus d'informations sur Santé publique France : <http://santepubliquefrance.fr/>

### **1.2 Présentation du PNBS**

En France, le programme national de biosurveillance (PNBS) est issu de l'engagement n°139 du Grenelle de l'environnement. La loi Grenelle I de programmation relative à la mise en œuvre du Grenelle de l'environnement (loi n° 2009-967 du 3 août 2009) a inscrit le PNBS dans l'action n°43 du second Plan National Santé Environnement (PNSE2, 2009-2013). Le pilotage technique de ce travail a été confié à Santé publique France. Les ministères chargés de l'environnement, de la santé, du travail, de l'agriculture et de la recherche ont saisi SpFrance en date du 23 octobre 2018 pour définir les modalités de la poursuite du programme national de biosurveillance.

Les objectifs du PNBS sont de produire des données de biosurveillance afin de :

- Décrire les niveaux d'imprégnation de la population (population générale, travailleurs, enfants, femmes enceintes...) aux polluants de l'environnement à partir de prélèvements biologiques (sang, urine, cheveux, sang de cordon ombilical, etc.).
- Comparer les niveaux d'imprégnation actuels avec ceux des études antérieures conduites en France et/ou à l'étranger afin d'identifier de potentielles sur-imprégnations.

- Identifier et quantifier les déterminants des niveaux d'imprégnation (modes d'imprégnation tels que l'alimentation, le lieu de domicile, les loisirs, les habitudes de vie, le type d'activité professionnelle, etc.).
- Établir des valeurs de référence d'exposition (VRE) pour les populations étudiées : femmes enceintes, enfants, adultes et éventuellement par classes d'âges et par sexe.

Le PNBS comporte plusieurs études dont l'étude Albane impliquée dans l'objet de ce marché.

### 1.3 Présentation de l'étude Albane

#### Contexte

L'enquête Albane est une enquête conjointe copilotée par Santé publique France et l'Anses. Elle est destinée à répondre à leurs missions respectives et complémentaires de surveillance et d'évaluation des risques sanitaires en matière d'**AL**imentation, de **B**iosurveillance, de **sA**nté, de **N**utrition et d'**E**nvironnement (**Albane**).

L'enquête Albane s'inscrit dans un contexte d'optimisation des moyens engagés par Santé publique France et l'Anses dans leurs enquêtes respectives et combine au sein d'une même enquête de terrain les objectifs jusqu'ici portés par l'enquête Esteban (2014-2016) et les études INCA (1998-1999, 2006-2007, 2014-2015). Pour répondre à l'ensemble des objectifs, l'enquête Albane se décline en trois volets : alimentation et nutrition, état de santé et biosurveillance, qui reposent sur une structure commune constituée d'une enquête par questionnaires, d'un recueil de données paracliniques via un examen et de la collecte d'échantillons biologiques (sang, urine et cheveux) pour réaliser des dosages et constituer une banque d'échantillons.

Innovante par rapport aux enquêtes d'origine, l'enquête Albane adopte un format de collecte de données en continu organisé selon des cycles de 2 ans. Chaque cycle inclut une série de questionnaires et de mesures sur les trois volets de l'enquête identiques d'un cycle à l'autre et constituant le socle de l'enquête. Une série d'indicateurs sera donc produite de manière récurrente afin d'être utile au pilotage des politiques en matière de santé publique. D'autres questionnaires, mesures ou analyses pourront par ailleurs compléter ce dispositif et varier d'un cycle à l'autre pour répondre à des problématiques plus ciblées.

Ce nouveau format d'enquête permettra une caractérisation plus fine et réactive des expositions et de différents indicateurs de santé, et, en prenant la forme d'une enquête par cycles de 2 ans, permettra aussi d'obtenir une estimation représentative des indicateurs au niveau national à l'issue de chaque cycle et, si besoin, une estimation régionale sur certains indicateurs en combinant des cycles.

#### Objectifs de l'enquête

De par son caractère cyclique, l'enquête Albane permet de répondre à des objectifs variables selon la temporalité de l'enquête considérée. Certains objectifs sont atteignables à court terme dès l'issue du premier cycle, et peuvent être reproduits si besoin à l'issue de chacun des cycles suivants. D'autres objectifs sont atteignables à plus ou moins long terme grâce à la combinaison de données recueillies sur plusieurs cycles successifs.

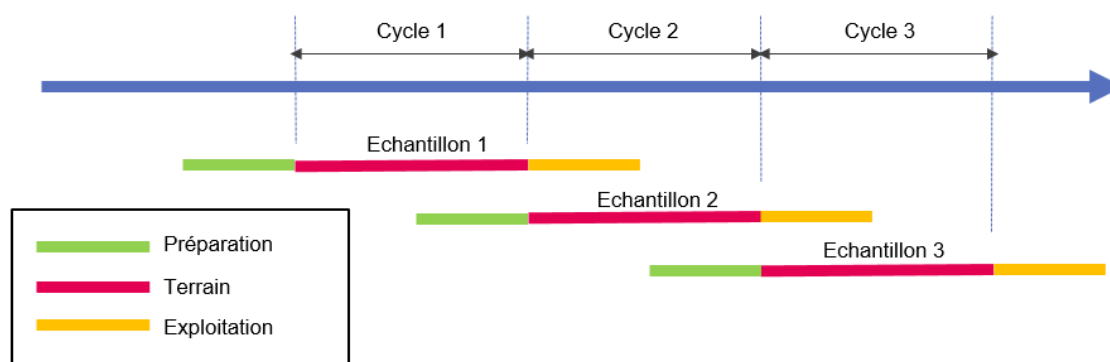
Les objectifs principaux poursuivis pour l'enquête sont la collecte et l'interprétation de différents indicateurs, au sein de la population âgée de 0 à 79 ans habitant en France métropolitaine (Corse comprise), portant sur :

- i) La biosurveillance des expositions aux polluants de l'environnement (décrire les niveaux d'imprégnation ; établir des valeurs de référence d'exposition ; comparer les niveaux

- d'imprégnation à l'échelle temporelle et géographique, analyser les déterminants de l'exposition...);
- ii) L'alimentation et la nutrition (décrire les consommations alimentaires, l'activité physique, la sédentarité et l'état nutritionnel de la population ; estimer les niveaux d'exposition aux facteurs de risque : corpulence, glycémie, statut lipidique, statut en vitamines et minéraux ; estimer les apports nutritionnels et les expositions à divers contaminants chimiques ou microbiologiques en vue d'évaluer les risques liés à l'alimentation ; décrire et identifier les habitudes et pratiques alimentaires à risques ; surveiller et évaluer les risques liés aux habitudes en termes de lieux d'achats et de consommation...);
  - iii) L'état de santé et les maladies chroniques (estimer et étudier les variations temporelles de la prévalence de certaines maladies chroniques chez les adultes : hypertension artérielle, diabète, maladie rénale, etc. et de la prévalence de l'atopie, des maladies allergiques et de l'asthme chez les enfants ; estimer la prévalence des facteurs de risque et la part de certaines maladies chroniques non diagnostiquées et non traitées pharmacologiquement ...).

### Type d'étude et organisation

Albane est une enquête transversale en population générale. Elle est conduite en continu sous la forme de cycles consécutifs d'une durée de deux ans chacun (figure 1).



**Figure 1** : Organisation du dispositif Albane par cycles (succession et chevauchement des phases)

### Périodes d'enquête et couverture géographique

Le terrain de l'enquête se déroule sur une période continue de deux ans pour chaque cycle afin de tenir compte de la saisonnalité des habitudes alimentaires, de l'activité physique et de certaines expositions. Le premier cycle de l'enquête aura lieu en 2025-2026, immédiatement suivi dès 2027 du deuxième cycle (jusqu'à fin 2028) et ainsi de suite. Chaque cycle de l'enquête couvrira les 13 régions de France métropolitaine (Corse comprise). Les DROM ne seront pas concernés par les 2 premiers cycles d'Albane.

### Population cible de l'enquête Albane

La population ciblée par l'enquête Albane est la population générale âgée de 0 à 79 ans et résidant de façon habituelle dans des ménages ordinaires<sup>1</sup> en France métropolitaine sur la période du cycle en cours.

## Effectifs attendus de participants au volet surveillance biologique par cycle

Le 1er cycle de l'enquête Albane inclura pour les besoins en biosurveillance un échantillon de 1 000 enfants âgés de 3 à 17 ans et de 1 000 adultes âgés de 18 à 79 ans. Des effectifs similaires sont attendus pour le deuxième et troisième cycle d'Albane.

### 1.4 Etude d'imprégnation en raison d'un contexte local ou de problématiques spécifiques

Santé publique France peut aussi développer des études d'imprégnation permettant de répondre à des problématiques spécifiques ou locales.

Les études d'imprégnation réalisées à côté d'anciens miniers en France<sup>2</sup> (Saint-Laurent le minier, les sites miniers du Gard, ...) en sont une illustration.

Aucune étude d'imprégnation en raison du contexte local n'est encore envisagée au moment de la publication de cet appel offre. Il n'est donc pas possible à ce stade de prévoir les effectifs envisagés. Santé publique France s'engage à ne pas dépasser 3000 échantillons dans ce contexte pour la durée de ce marché. Santé publique France s'engage à prévenir au moins 12 mois en avance le titulaire en cas d'étude locale comportant plus de 300 échantillons

## 2. DESCRIPTION DES PRESTATIONS ATTENDUES

### 2.1 Résumé de la prestation

Le présent marché a pour objet le dosage, d'environ **2000 échantillons d'urines** (voir paragraphe 2.6) collectés dans le cadre du premier cycle de l'étude Albane, et d'environ 2000 échantillons dans le cadre du troisième cycle d'Albane ainsi que tout échantillon recueilli dans le cadre d'étude d'imprégnation en raison d'un contexte local ou de problématiques spécifiques.

La prestation consiste pour chaque étude ou cycle pour le laboratoire à :

- Réceptionner les échantillons d'urines congelés conditionnés préférentiellement en cryotubes en polypropylène de 2 mL. En cas d'indisponibilité de ces conditionnements, des tubes contenant 1 mL d'urines pourront être livrés au laboratoire ;
- Stocker les échantillons à -20°C jusqu'à leur analyse ;
- Décongeler, préparer et analyser les échantillons d'urines conformément aux méthodes et procédures décrites à l'appui de l'offre, permettant d'approcher les niveaux de performance requis dans le présent cahier des charges ;
- Constituer la base de données des résultats de dosage et la transférer de façon sécurisée à Santé publique France ;

---

<sup>2</sup> Cochet A, Fillol C, Le Tertre A, Allié M, Bengoua S, Sénémaud B, Bidondo M, Chesneau J, Mouly D. Étude d'imprégnation combinée à une approche participative pour la gestion d'une situation de sols pollués dans le Gard (2015-2017). Bull Epidemiol Hebd. 2020;(18-19):354-360

- Transmettre à Santé publique France les résultats des 100 premiers échantillons analysés en vue d'une réunion d'échange pour valider ces résultats. Les échantillons suivants ne seront pas traités avant la tenue de cette réunion ;
- Transmettre à Santé publique France les résultats des échantillons analysés et des éléments de contrôles qualités ainsi qu'un fichier final regroupant l'intégralité de ces informations et des informations de traçabilité à la fin de l'étude
- Détruire les échantillons d'urine mère (cryotubes) à la fin de l'étude et éventuellement certains aliquotes (abandons de participation, etc.), après accord de Santé publique France.

La prestation démarrera à la réception des premiers échantillons, à partir de janvier 2026. Le laboratoire disposera de 6 mois pour doser les échantillons à compter de leur réception.

## 2.2 Liste détaillée des biomarqueurs à analyser

Le présent marché concerne le dosage des différents éléments répertoriés dans le tableau ci-dessous:

Selon la prestation supplémentaire éventuelle (PSE) qui serait retenue par Santé publique France Le dosage complémentaire du Folpel sera réalisé par le laboratoire dans les mêmes échantillons et les mêmes conditions techniques que les autres substances.

**| Tableau 1 | Liste des biomarqueurs à analyser**

Substance	Numéro CAS
Phthalimide	85-41-6
Phthalic acid	88-99-3
<b>PSE :</b>	
Folpel	133-07-3

## 2.3 Niveaux observés en population générale

Le laboratoire, titulaire du présent marché, aura les compétences pour doser avec de bonnes performances ces substances aux concentrations habituellement retrouvées **en population générale**.

Une étude menée en France permet de disposer d'indications sur les niveaux d'imprégnation en phtalimide et acide phtalique en population générale non exposée professionnellement aux pesticides et vivant à proximité de vignes<sup>3</sup>.

A titre indicatif, le tableau suivant donne les niveaux d'imprégnation en phtalimide et acide phtalique mesurés dans la matrice urinaire en France dans le cadre de cette étude.

<sup>3</sup> Dereumeaux C, Mercier F, Soulard P, Hulin M, Oleko A, Pecheux M, et al. Identification of pesticides exposure biomarkers for residents living close to vineyards in France. Environ Int. 2022;159:107013.



**| Tableau 2 | Niveaux d'imprégnation moyen observés en population générale en France**

Biomarqueur	Etude	Population	Moyenne géométrique	%(>LOD)	Méthode analytique
Phtalimide	Dereumeaux et al. 2022 [1]	France Adultes 18-74 ans (n=60)	Riverains : 1,1 µg/g créat Témoins : 0,9 µg/g créat	48% LOD=0,5 µg/L	GC-MS/MS
	Dereumeaux et al. 2022 [1]	France Enfants 6-17 ans (n=61)	Riverains : 0,9 µg/g créat Témoins : 0,5 µg/g créat	48% LOD=0,5 µg/L	GC-MS/MS
Acide phtalique	Dereumeaux et al. 2022 [1]	France Adultes 18-74 ans (n=60)	Riverains : 85,1 µg/g créat Témoins : 76,2 µg/g créat	100% LOD=2,5 µg/L	GC-MS/MS
	Dereumeaux et al. 2022 [1]	France Enfants 6-17 ans (n=61)	Riverains : 56,3 µg/g créat Témoins : 43,5 µg/g créat	100% LOD=2,5 µg/L	GC-MS/MS
<b>PSE</b>					
Folpel	Pas de données disponibles				

## 2.4 Organisation de la prestation

Le laboratoire, titulaire du présent marché, disposera des ressources techniques et humaines suffisantes pour traiter l'ensemble des échantillons d'urines (voir paragraphe 2.6) qui seront transmis. L'envoi des échantillons au laboratoire pour analyse pourra intervenir à partir de janvier 2026 à raison de maximum 3 envois par an.

A compter de chaque réception des échantillons, la quantification des composés est attendue dans un délai maximum de 6 mois. Pour garantir le délai d'exécution, la prestation devra commencer au plus vite et au plus tard dans le mois suivant chaque réception des échantillons. Le titulaire adressera tous les trimestres les résultats obtenus au fur et à mesure de la réalisation des dosages.

En amont de la prestation, une réunion sera organisée entre Santé publique France et le laboratoire. Une éventuelle visite du laboratoire par Santé publique France pourra être réalisée.

Dans un premier temps, le laboratoire devra effectuer les analyses sur 100 échantillons d'urines de l'étude et transmettre le fichier de résultats à Santé publique France. Une réunion sera organisée par le laboratoire afin de présenter les premiers résultats obtenus. Après validation écrite de ces premiers résultats par Santé publique France sous 20 jours ouvrés, le laboratoire pourra poursuivre la prestation sur l'ensemble des échantillons en transmettant trimestriellement à Santé publique France les résultats obtenus. Une fois, l'intégralité des dosages réalisée, le laboratoire organisera une réunion avec Santé publique France afin de présenter les résultats finaux

Précision : Le nombre d'échantillons à analyser et la date d'envoi sont donnés à titre d'information.

## 2.5 Nature des échantillons

Il s'agit des urines recueillies le matin au réveil du participant dans des contenants en polypropylène (PP) de 200 mL. Elles sont mises au frais (+4 à +10°C environ), à l'abri de la lumière (sachet opaque)

et transportées au laboratoire de biologie médicale (LBM) dans les heures qui suivent le prélèvement. Les urines y sont congelées à -20°C et ensuite transportées en biothèque (CRB du CHRU de Tours) où elles sont décongelées (décongélation lente à +4°C), homogénéisées et aliquotées dans des cryotubes en PP de différents volumes.

Les urines destinées au dosage des métabolites du fopel sont conditionnées dans des tubes en polypropylène, conservés à -80 °C.

Le laboratoire disposera de 2 mL d'urines, conditionnés en tubes de 2 mL pour effectuer le dosage des métabolites du fopel. En cas d'indisponibilité de ces conditionnements, des tubes de 1 mL pourront être utilisés.

Une fiche de traçabilité des prélèvements est renseignée pour chaque participant. Elle précise les conditions réelles de réalisation des prélèvements.

## **2.6 Estimation du nombre d'échantillons collectés**

Il n'est pas possible de prévoir précisément avant l'étude le nombre de participants dans le cadre d'étude d'impregnation en raison d'un contexte local ou de problématiques spécifiques.

En ce qui concerne l'enquête Albane, à ce stade il est envisagé l'analyse d'environ 2000 échantillons au sein du premier cycle (recueil des échantillons sur 2025-2026) et 2000 échantillons au sein du troisième cycle d'Albane (à confirmer, recueil des échantillons sur 2029-2030).

## **2.7 Conditions de transport**

La prestation de dosage débute dès la réception des échantillons par le laboratoire.

Le transport des échantillons du lieu de stockage des échantillons au laboratoire de dosage n'entre pas dans le cadre du présent marché. Il est à la charge de Santé publique France.

Les aliquotes d'urines seront transportées vers le laboratoire de dosage par un transporteur spécialisé (carboglance, sonde d'enregistrement de température).

A titre d'information, le transport des échantillons vers le laboratoire de dosage pourra être organisé tous les 6 mois à partir de janvier 2026.

## **2.8 Réception des échantillons**

Le laboratoire transmettra à Santé publique France le profil ainsi que les coordonnées (Nom, Prénom, adresse mail et numéro de téléphone) de la ou des personne(s) en charge de la réception des échantillons au sein de l'équipe et tiendra Santé publique France informé en cas de changement du correspondant après notification du marché ou si celui-ci ne peut assurer la réception des échantillons. La ou les personne(s) en charge de la réception au sein du laboratoire devront être présente(s) à la date et l'heure convenues avec Santé publique France afin d'assurer la réception des échantillons.

En amont de la réception des échantillons, SpFrance transmettra au laboratoire un fichier type Excel contenant toutes les informations relatives aux échantillons à réceptionner (Nombre de cryoboîtes, nombre d'échantillon, identifiant des échantillons, nature, volume).

Le laboratoire devra par ailleurs disposer des capacités humaines, techniques et matérielles pour permettre la réception de l'ensemble des échantillons qui pourront, si le plan de transport le prévoit, être mis à sa disposition en une seule livraison.

A la réception des lots d'échantillons par le laboratoire, le titulaire vérifiera, en présence du transporteur, la qualité des échantillons réceptionnés, en particulier l'état des containers de transport et des cryoboîtes à la réception, et le respect de la température de transport fixée entre -80°C et -70°C (l'absence de résidus de carboglace au moment de la livraison des échantillons au laboratoire étant considérée comme un non-respect des conditions de conservation souhaitées). Le laboratoire devra posséder le matériel informatique permettant d'éditer rapidement la courbe de température enregistrée par la/les sonde(s) lors du transport (poste informatique pouvant accueillir une clé USB ou logiciel associé) lorsqu'une anomalie est constatée au moment de la livraison.

Le titulaire complètera, validera et signera le bon d'expédition, fourni par le transporteur, assurant réception des échantillons et le transmettra à Santé publique France par mail au maximum 48 heures après la livraison. Le listing complet de tous les identifiants des échantillons reçus devra être transmis à Santé publique France par mail.

La procédure de réception des échantillons devra être fournie par le laboratoire à l'appui de son offre et devra être respectée lors de la réalisation de la prestation.

Le laboratoire doit informer Santé publique France dans les 72 heures, de la bonne réception des échantillons le cas échéant préciser les conditions de non-conformités.

## **2.9 Etiquetage d'identification**

Chaque cryotube envoyé au laboratoire sera étiqueté avec un numéro d'identification propre à l'étude. En plus du numéro d'identification « étude », les échantillons reçus par le laboratoire seront identifiés par un code interne au laboratoire. Le laboratoire a en charge de mettre en place les procédures adéquates permettant d'assurer la traçabilité de ces informations. Il transmettra à chaque réception d'échantillon un fichier indiquant la correspondance entre le numéro d'identifiant de l'étude et le numéro d'identifiant attribué par le titulaire.

Tous les résultats rendus à Santé publique France devront être associés au numéro d'identification « étude » figurant sur le cryotube utilisé pour l'analyse.

## **2.10 Conservation des échantillons**

Pendant la durée du présent marché, le titulaire a en charge la conservation des échantillons qui lui sont remis de façon à préserver leur intégrité. Les échantillons devront être conservés dans l'obscurité à une température maximale de -20 °C.

En cas d'incident susceptible d'altérer la bonne conservation des échantillons, le titulaire doit respecter les procédures décrivant les délais d'alerte et les conditions mises en œuvre pour assurer la conservation des échantillons selon les directives reconnues au plan international et, notamment, en cas de panne (alarmes, groupe de secours ...). Il en informera SpFrance dans les meilleurs délais (au plus tard dans les 48 heures).

La procédure de conservation des échantillons devra être fournie par le laboratoire à l'appui de son offre et devra être respectée lors de la réalisation de la prestation.

## **2.11 Conditions de manipulation des échantillons**

Pendant la durée du présent marché, le titulaire a en charge d'appliquer les procédures de vérification d'absence de contamination durant les analyses et de prendre les mesures nécessaires en cas de contamination suspectée telles que présentées dans sa réponse à l'appel d'offres. Le laboratoire devra également s'assurer de l'absence de contamination de tous les instruments, équipements ou vaisselle utilisés à chaque étape du dosage.

Par ailleurs, le titulaire a en charge l'application des procédures de décontamination du matériel utilisé pour le dosage et les modalités de leur validation, telles que fournies à l'appui de son offre.

## **2.12 Destruction des échantillons**

Lors de la remise des résultats de dosage à l'équipe Biosurveillance de Santé publique France, le titulaire indique le nombre de tubes non vides et volumes de matrice associés qui lui restent à la fin de la prestation d'analyse. Le laboratoire a en charge la conservation des échantillons non vides pendant 3 mois, à compter de la validation de l'ensemble des dosages par Santé publique France. Les échantillons pourront servir à d'éventuels redosages qui seraient expressément demandés par l'équipe Biosurveillance. Au terme de ce délai, la destruction des résidus issus des analyses est à la charge du titulaire après accord de l'équipe Biosurveillance.

La destruction des échantillons avant dosage se fera uniquement sur demande de Santé publique France, à la suite d'une demande de retrait formulée par un participant ne souhaitant plus participer à l'étude. La demande sera transmise au laboratoire par Santé publique France par email avec la fiche de destruction de l'échantillon de ce participant. La destruction de l'échantillon sera effectuée selon le standard des bonnes pratiques de laboratoire. Le laboratoire devra alors compléter un « accusé de destruction d'échantillons biologiques » (le modèle sera fourni par Santé publique France sur demande) qu'il transmettra à Santé publique France.

## **2.13 Hygiène - Sécurité**

Etant donné la nature des échantillons à doser, le laboratoire prendra et fera appliquer toutes les précautions d'hygiène nécessaires afin d'éviter tout risque sanitaire pour le personnel du laboratoire. Santé publique France ne pourra être tenu responsable en cas de contamination (quel que soit le type de contamination) du personnel du laboratoire. Les procédures de contrôles prévues en amont sur ce point (bactériologie, virologie, etc.) sont les contrôles classiques pour les laboratoires de biologie. Le laboratoire indiquera aussi lorsqu'il dispose d'une accréditation COFRAC pour l'analyse des métabolites du fopel ou de ses métabolites dans les urines.

# **3. EXIGENCES ANALYTIQUES POUR L'EXECUTION DE LA PRESTATION**

## **3.1 Prescriptions concernant la méthode et procédures d'analyse**

Chaque laboratoire répondant à l'appel d'offre indique la méthode qu'il utilise pour la détermination du fopel et métabolites décrits dans le Tableau 1 et, le cas échéant les composés en option 1 et 2. Il doit

fournir la description des méthodes analytiques, ainsi que leurs conditions de validations, utilisées pour le dosage de tous les composés. Le titulaire doit s'assurer que la méthode d'analyse choisie permet d'approcher les niveaux de performance précisés au paragraphe 3.4.

Les procédures de préparation et d'analyse des échantillons devront également être fournies par le laboratoire à l'appui de son offre.

L'analyse des échantillons sera réalisée :

- conformément à la méthode telle que décrite à l'appui de son offre, permettant d'approcher les niveaux de performance requis dans le présent cahier des charges,
- conformément aux procédures de préparation et d'analyses des échantillons telles que décrites à l'appui de son offre,
- conformément aux validations des procédures de préparation et d'analyse des échantillons telles que décrites dans son offre.

Il est demandé que le titulaire du présent marché effectue les calculs d'incertitude selon la norme NF T 90-210 pour 3 niveaux de concentrations : faibles (proche de la LOQ), moyens (proches de la valeur moyenne en population générale) et élevés (percentile 95 de la distribution en population générale) sur au moins 6 points et dans des conditions de fidélité intermédiaire le plus proches possibles des conditions réelles d'analyse des échantillons futurs. En cas de méthode développée récemment au sein du laboratoire, une méthode de calcul alternative est possible. Cette dernière devra alors être décrite précisément.

Le titulaire transmettra à l'équipe en charge de l'étude les valeurs obtenues pour tous les composés en indiquant la méthode de calcul utilisée (préciser le facteur d'élargissement utilisé). Ces éléments devront être fournis par le laboratoire à l'appui de son offre et devront être respectés lors de la réalisation de la prestation, objet du présent marché.

**Le titulaire s'engage, dès lors que des essais inter-laboratoire (EIL) sont organisés, à participer à au moins un d'entre eux pendant toute la durée du marché et à transmettre à Santé publique France les certificats obtenus chaque année. En cas de non satisfaction à un essai inter-laboratoire, le titulaire s'engage à prévenir Santé publique France dans les plus brefs délais.**

### **3.2 Prescriptions concernant la manipulation des échantillons**

Les échantillons d'urines seront décongelés par décongélation longue en réfrigérateur à +4°C. Les flacons seront ensuite homogénéisés par vortex.

Le délai entre la préparation et la quantification des échantillons ne devra pas excéder une semaine. Le laboratoire devra indiquer à l'issue des dosages dans un fichier les identifiants des tubes avec le statut « ouverts » ou « non ouverts », ainsi que le volume restant après le dosage dans les tubes. Hors dépassement du domaine d'étalonnage, aucune initiative de redosage ne devra être prise par le laboratoire sans l'accord écrit au préalable de Santé publique France.

### 3.3 Prescriptions concernant les limites de détection et de quantification

La limite de détection sera déterminée selon les principes de la directive européenne 2002/657/CE concernant le nombre de points d'identification d'une méthode analytique.

Le laboratoire devra déterminer sa limite de quantification (LOQ) en réalisant des mesures répétées ( $n=10$ ) dans la matrice de dosage (sérum, urine, etc.) ainsi que sa justesse et sa fidélité intermédiaire à ce niveau de concentration. Cela correspond donc à la limite de la méthode employée dans ces conditions et non pas à la limite instrumentale.

La limite de quantification (LOQ) est définie comme la concentration la plus faible pour laquelle l'écart-type relatif du signal brut ( $n = 5$ ) est inférieur ou égal à 20 % **ET** le rapport signal/bruit est supérieur ou égal à 10, **ET** le signal brut est supérieur ou égal à 5 fois le signal de l'échantillon blanc.

La limite de détection (LOD) est définie comme la plus faible concentration qui peut être détectée de l'absence de cette substance. Elle correspond généralement à la LOQ divisée par un facteur 3.

Le laboratoire devra fournir un tableau avec la limite de détection ( $\mu\text{g/L}$ ), la limite de quantification ( $\mu\text{g/L}$ ), ainsi que l'incertitude (%) (avec  $k=2$ ) à trois niveaux : une concentration proche de la LOQ, une concentration proche de la valeur moyenne en population générale et une concentration élevée (95<sup>ème</sup> percentile de la distribution en population générale). Il devra également préciser la valeur maximale quantifiable par la méthode analytique employée dans ces conditions.

Le laboratoire devra également fournir la concentration minimale du biomarqueur pour laquelle une contamination des échantillons suivants de la série est possible (« carry over »).

A titre d'information, Santé publique France souhaiterait que les limites de détection et de quantification soient proches de celles spécifiées dans le tableau ci-dessous :

**| Tableau 3 | Limites de détection et de quantification souhaitées par Santé publique France**

Substance	Limite de détection ( $\mu\text{g/L}$ )	Limite de quantification ( $\mu\text{g/L}$ )
Phtalimide	0,08	0,25
Acide phtalique	0,8	2,5
<b>PSE</b>		
Folpel	0,8	2,5

### 3.4 Prescriptions concernant la validation des résultats

#### a. Calibration et étalonnage

L'étalonnage complet doit être réalisé en urines naturelles au moins tous les 100 échantillons à l'aide de 5 ou 6 niveaux de concentrations encadrant les valeurs attendues en population générale.

Dans le fichier de résultats, le laboratoire devra indiquer la date de l'étalonnage, le coefficient  $R^2$  qui devra être supérieur à 0.95, la fonction d'étalonnage et les niveaux de concentration utilisés.

Si les résultats des étalonnages ne sont pas satisfaisants, le laboratoire s'engage à redoser l'ensemble des échantillons correspondants ( $N=100$ ), après accord écrit de Santé publique France.

## **b. Matériaux de référence**

Les matériaux de référence utilisés en urines naturelles pour la validation de la méthode, l'étalonnage ou la mise en œuvre du contrôle qualité devront être adaptés aux concentrations attendues dans la population de l'étude, objet du présent cahier des charges. Si ces échantillons n'existent pas, ils devront être produits par le laboratoire à l'aide d'une dilution d'échantillons commerciaux certifiés ou à l'aide d'ajouts dosés. L'incertitude sera évaluée avec ces MRC.

## **c. Blancs**

Les blancs en urines naturelles devront être dosés dans les séries de dosage au moins tous les 20 échantillons.

Les blancs méthode en urines synthétiques devront être dosés dans les séries de dosage au moins tous les 20 échantillons et devront être non quantifiables pour s'assurer de la non-contamination du circuit analytique.

Si les résultats des blancs ne sont pas satisfaisants, le laboratoire s'engage à redoser la série correspondante, après accord écrit de Santé publique France.

## **d. Contrôles de qualité internes (règles de Westgard/cartes de contrôle)**

Les contrôles de qualités internes en urines naturelles devront être dosés et quantifiés dans les séries de dosage au moins tous les 20 échantillons et devront couvrir systématiquement 3 niveaux de concentrations (bas : proche de la LOQ, moyen : proche de la moyenne géométrique attendue en population générale et haut : 95<sup>ème</sup> percentile de la distribution attendue en population générale).

Le laboratoire fournira avec les fichiers de résultats les cartes de contrôle correspondantes en format Excel. Le laboratoire veillera à respecter impérativement les règles de Westgard suivantes: (s = écart-type)

- Règle 22S : deux résultats consécutifs et du même côté de la cible ne doivent pas être supérieurs au CQI  $\pm 2s$
- Règle 13S : le résultat du contrôle ne doit pas être supérieur à la valeur du CQI  $\pm 3s$
- Règle 10X : dix résultats consécutifs ne doivent pas être situés du même côté de la cible

Si les résultats à ces contrôles ne sont pas satisfaisants, le laboratoire s'engage à redoser la série correspondante, après accord écrit de Santé publique France.

## **3.5 Rendu des résultats**

Les résultats des analyses seront consignés dans un fichier Excel dont la trame sera fournie au laboratoire par l'équipe Santé publique France, après notification du marché.

Les fichiers de résultats contiendront pour chaque biomarqueur :



- l'identifiant « étude » figurant sur le cryotube
- l'identifiant du laboratoire
- le numéro de la série
- la date de réception de l'échantillon
- la date de la préparation de l'échantillon
- la date d'injection de l'échantillon dans l'instrument de mesure
- le type d'essai (échantillon, blanc, contrôle, étalon)
- le facteur de dilution le cas échéant
- les concentrations en fopel et métabolites en µg/L d'urines (avec à minima 2 chiffres après la virgule)
- le statut du dosage (1 : > LOQ ; 2 : compris entre LOD et LOQ ; 3 : < LOD)
- le dosage des blancs en urines naturelles et en urines synthétiques en µg/L
- la date des étalonnages, les coefficients R2, les équations d'étalonnage, et les concentrations utilisées pour chaque série
- le dosage des contrôles internes en µg/L avec les cartes de contrôles associées au format Excel pour chaque série avec les valeurs cibles (dans un fichier spécifique contenant aussi une colonne avec la date et l'heure d'injection et une colonne avec le numéro de série)
- les remarques sur les tubes de l'étude (couleur anormale, problème lors de la préparation, etc.)

Si plusieurs méthodes analytiques sont utilisées, le laboratoire transmettra un fichier de résultats par méthode utilisée.

A titre d'information, un exemple de fichier de résultat au format souhaité est disponible en Annexe de l'appel d'offres.

Les étapes de saisie manuelle devront être limitées au strict minimum (machine reliée directement à un ordinateur), ceci afin de limiter les erreurs de saisie pour les résultats. Lorsque des étapes de saisie sont indispensables, le laboratoire fournira les procédures d'assurances qualités mises en place pour éviter ces erreurs.

Le titulaire adressera tous les trimestres les résultats obtenus au fur et à mesure de la réalisation des dosages.

Un fichier de résultats final sera adressé à Santé publique France ainsi qu'un rapport final complet reprenant toutes les informations de traçabilité des échantillons sera envoyé à la fin de l'étude avec l'ensemble des résultats. Il comprendra l'indication des nombres, volumes et statut (ouvert ou non) des tubes restants. Le laboratoire organisera aussi une réunion avec Santé publique France afin de présenter les résultats finaux.

Le transfert à Santé publique France pourra se faire par un dépôt sur un serveur sécurisé de Santé publique France. La procédure de dépôt de fichier sur le serveur sécurisé de Santé publique France sera décrite et envoyée avant le démarrage de l'enquête. Un autre système de dépôt pourra être choisi en accord avec le Responsable de la Sécurité des Systèmes d'Information de Santé publique France.

## 4. CONFIDENTIALITE

Le laboratoire s'engage à tenir confidentielles toutes les informations qui lui sont communiquées ainsi que les résultats d'analyses, et à faire en sorte qu'ils ne soient pas divulgués à des tiers sans l'autorisation écrite de l'équipe en charge du marché.