

NOUVELLES DEMANDES EN MATERIAUX DE REFERENCE CERTIFIES CAS DE SECTEURS EMERGENTS : ENVIRONNEMENT : BIOLOGIE ET AUTRES

Philippe Charlet, Gilles Hervouët
Laboratoire National d'Essais
1, rue Gaston Boissier
75724 Paris Cedex 15

Résumé

Cette présentation se propose de rappeler ce que sont les différents types de matériaux de référence ainsi que leur importance en tant que maillons essentiels d'une chaîne de traçabilité. Il est proposé ensuite d'effectuer un tour d'horizon de la situation des matériaux de référence au niveau mondial, puis d'aborder les nouvelles demandes en matériaux de référence de secteurs comme l'environnement, la chimie clinique, la biologie et l'agroalimentaire. Les législations (par exemple la Directive cadre sur l'eau et la Directive Diagnostic In Vitro) constituent des moteurs puissants de développement de matériaux de référence qui obligent les producteurs à satisfaire de nouvelles exigences pour rendre ces matériaux les plus proches possibles de la réalité.

New demands of Certified Reference Materials in some emergent sectors

This paper presents an introduction of the definition of reference materials and on their role as essential tools for the achievement of traceability of measurements. Then a survey of the international market situation is presented. Over the last two decades there has been a significant change in the requirements for the production and certification of reference materials, mainly due to the request for more complex and unstable matrices in new or emergent industrial sectors. With the advent of reference materials environmentally oriented or related to food, clinical analyses and biotechnology, the obligations of CRMs producers have completely changed and the production of matrix CRMs become a more complex and expensive process.

Traçabilité des mesures

La prise de décision dans le domaine industriel, commercial et réglementaire repose sur la connaissance et l'échange d'informations, elles-mêmes très souvent basées sur les résultats de mesures obtenues dans des laboratoires. Ces mesures doivent être comparables et donc traçables à la même unité. Etablir et démontrer la traçabilité des mesures est une tâche délicate, d'autant plus que l'essentiel des contributions présentées dans la littérature ces dernières années peuvent être considérées comme peu « opérationnelles » pour l'utilisateur final. La notion de traçabilité reste encore peu claire voire mystérieuse dans beaucoup de domaines, en particulier ceux qui touchent à l'environnement, la biologie et la chimie clinique.

Il est utile de rappeler qu'il existe trois types de traçabilité [1, 2] :

- La traçabilité matière, qui concerne l'historique de fabrication du lot de produit et qui précise l'origine de tous les produits utilisés pour cette fabrication ;
- La traçabilité documentaire, qui permet de trouver les données brutes, les procédures, les certificats d'étalonnage, etc., jusqu'au rapport final ;
- Enfin la traçabilité métrologique, qui permet d'assurer que l'unité du résultat est universelle. Elle est assurée par une succession logique d'opérations qui peuvent consister en l'utilisation de substances pures et de matériaux de référence.

Du point de vue de l'utilisateur, ces trois types de traçabilité sont importantes.

Le raccordement aux unités et étalons, qui permet d'établir la fonction qui relie le signal (obtenu par un système d'analyse ou un capteur) au résultat, est assuré par trois types de méthodes précisées dans le guide ISO 32 [3, 4] : le raccordement de pesées, l'utilisation de produits purs, l'utilisation de matériaux de référence certifiés (ou de matériaux de référence internes, eux-mêmes raccordés).

Définitions des matériaux de référence

La terminologie concernant les matériaux de référence doit encore être clarifiée [5] car de nombreux termes sont utilisés, parfois de manière imprécise. Le VIM (Vocabulaire International des termes fondamentaux et généraux de Métrologie), le Guide ISO 30 (1992) ainsi que le Guide EURACHEM sur la validation (1998) ne s'entendent pas complètement sur la notion de matériau de référence, de matériau de référence certifié, d'étalon (terme utilisé aussi en anglais) et de « measurement standard ». Les définitions les plus consensuelles sont données dans le Guide ISO REMCO (ISO Committee on reference materials) [6, 7] :

Matériau de référence (RM) : matériau ou substance dont une (ou plusieurs) valeur de la propriété est suffisamment homogène et bien définie pour permettre de l'utiliser pour l'étalonnage d'un appareil, l'évaluation d'une méthode de mesurage ou l'attribution de valeurs aux matériaux.

Matériau de référence certifié (MRC) : matériau de référence, accompagné d'un certificat, dont une (ou plusieurs) valeur de la propriété est certifiée par une procédure qui établit son raccordement à une réalisation exacte de l'unité dans laquelle les valeurs de la propriété sont exprimées et pour laquelle chaque valeur certifiée est accompagnée d'une incertitude à un niveau de confiance indiqué.

Compte-tenu des multiples rôles et usages des matériaux de référence, le comité 4E/RM [8] considère plusieurs types de matériaux de référence :

- Substances pures, caractérisées pour la pureté chimique ou la présence d'impuretés.
- Solutions étalons et mélanges gazeux, souvent préparés gravimétriquement et utilisés pour le calibrage des instruments.
- Matériaux de référence à matrice, caractérisés pour la composition de constituants majeurs, mineurs ou traces. Ces matériaux sont préparés à partir de matrices qui contiennent les composés d'intérêt, ou de manière synthétique en dopant une matrice par les composés.
- Matériaux de référence physico-chimiques caractérisés pour des propriétés telles que point de fusion, viscosité, densité optique, résistance au choc.
- Produits de référence d'une propriété spécifique comme l'indice d'octane, la dureté, l'odeur, le point éclair, etc.

D'autres classes sont aussi rencontrées : matériaux de référence secondaires et matériaux de référence de travail, matériaux de référence « maison ».

Pour assigner une valeur à la propriété du matériau de référence et donc certifier ce matériau de référence, plusieurs méthodes ou combinaison de méthodes sont utilisées : méthode primaire, méthode avec biais connu, méthode indépendante ou de référence, comparaison interlaboratoire.

Rôle des matériaux de référence

Les matériaux de référence sont des outils importants pour confirmer l'identité d'un analyte, pour le calibrage des instruments et la validation des méthodes. Ils sont aussi une des composantes les plus importantes d'un système d'assurance qualité, même s'il n'est pas encore clairement établi comme ils doivent être utilisés. Ils peuvent jouer un rôle dans le contrôle qualité (surveillance d'un processus analytique), la validation des méthodes, les tests d'aptitude (assurance qualité externe), et l'estimation de l'incertitude.

Les matériaux de référence sont utilisés dans les processus de mesure dans les domaines de la chimie, de la biologie, de la chimie clinique, etc. Ils permettent de caractériser l'identité des matériaux (structure chimique, type de fibres, espèces microbiologiques, etc.) ou des propriétés (quantité d'une espèce chimique donnée, dureté, etc.).

Le rôle des matériaux de référence dans la validation des méthodes est essentiel. Ils permettent d'estimer le biais, c'est à dire la différence entre la valeur mesurée et la valeur vraie, dans les limites de l'incertitude de la valeur certifiée et de la méthode soumise à la validation. Mais dans les domaines où la matrice de l'échantillon a une grande importance, comme la biologie ou l'environnement, les matériaux de référence doivent être rigoureusement choisis et appropriés en termes de matrice (« matrix match ») et d'interférences possibles, de concentration de l'analyte, d'homogénéité et de stabilité.

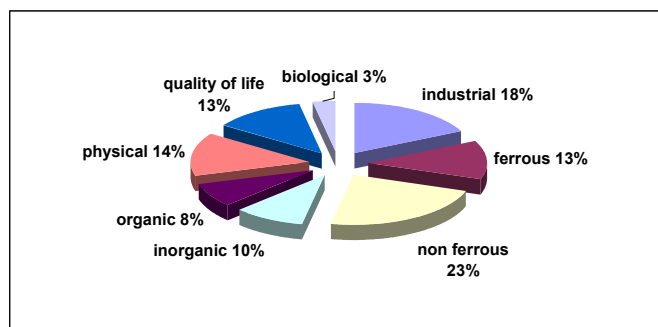
Les différentes sortes de matériaux de référence

Au niveau mondial on estime qu'il existe environ 20 000 matériaux de référence (MR ou MRC) produits par 250 sociétés. La banque de données COMAR en recense plus de 10 000.

Certains producteurs de MRC sont spécialisés dans un type de matériau de référence pour répondre aux besoins spécifiques d'un secteur industriel (par exemple la sidérurgie) et d'autres sont plus généralistes. La plupart des producteurs mentionnent dans leur certificat une traçabilité au NIST (*traceable to NIST*), ce qui est présenté comme un label de qualité et surtout un argument de vente, mais ils restent évasifs sur la réalisation pratique et le crédit que l'on peut apporter à cette traçabilité. Il est en tout cas clair que le marché des matériaux de référence, et celui en particulier lié à la chimie, est un marché très actif et vraisemblablement lucratif dans certains domaines bien ciblés.

La **pharmacopée** constitue certainement le plus gros producteur et aussi le plus important client et distributeur de matériaux de référence. L'USP (United States Pharmacopeia) possède un catalogue de 1400 références et les deux principales pharmacopées (United States Pharmacopeia et European Pharmacopeia) ont distribué 340 000 unités en 2001. Ce marché est estimé à 80 millions de dollars par an. Ce nombre est à comparer au chiffre d'affaire du NIST, d'environ 10 millions de dollars pour l'ensemble de ses matériaux de référence.

La banque de données **COMAR** donne une bonne idée de la répartition de matériaux de référence en fonctions des secteurs d'utilisation et de leur nature :



La répartition est assez homogène entre les catégories, on observe tout de même une prédominance des matériaux métalliques ferreux et non ferreux, correspondant essentiellement à des alliages.

Certains grands **Laboratoires Nationaux de Métrologie** produisent une large gamme de matériaux de référence. Le LGC associé à son distributeur Promochem possède un catalogue de 3000 références, le NIST en présente 2000 et l'IRMM 450. Pour ce dernier, aux 450 MRC du catalogue correspondent 500 000 échantillons en stock.

Chaque producteur et chaque institut de métrologie a choisi une classification propre pour laquelle il correspond des dénominations spécifiques des domaines. Chaque catalogue peut être considéré comme un produit commercial personnalisé. Néanmoins, des catégories de

matériaux de référence « classiques » subsistent, comme par exemple :

- **Physical properties** : il s'agit de matériaux qui caractérisent une propriété physique (thermodynamique, optique, électrique, ...).
- **Industrial raw materials & products** : cette catégorie regroupe les matériaux industriels primaires ou semi-finis comme les métaux (ferreux et non ferreux), les verres et céramiques, les fiouls, les matières plastiques, etc.
- **Engineering materials** : ce sont les matériaux spécifiquement techniques ou permettant de mesurer des performances techniques, comme ceux concernant la taille de particules, l'abrasivité, la dureté, la résistance au choc, l'adhésivité, etc.
- **Radioactivity** : cette catégorie rassemble les solutions radioactives, les isotopes (carbon 14 dating par exemple), les radioéléments pharmaceutiques.

Secteurs émergents

A côté de ces catégories classiques sont apparus de nouveaux secteurs avec des dénominations très variables et qui présentent une très large variété de matériaux de référence. On rencontre par exemple une catégorie **RMs for the Quality of Life** dans laquelle sont regroupés les matériaux de référence concernant l'environnement, les produits agro-alimentaires, les aliments et même les matériaux liés à la métrologie légale et à la criminologie.

La catégorie **Environnement** est présente dans tous les catalogues et on trouve des matériaux à matrice comme, à titre d'exemples :

- Eléments majeurs et traces dans des sédiments antarctiques, dans de l'eau de pluie, de l'eau souterraine, de l'eau de mer, ...
- Spéciation : composés de l'étain, du mercure, du plomb, de l'arsenic, du chrome.
- PCBs, Pesticides et dioxines dans le sérum humain.

De très nombreux MRC sont proposés dans la catégorie **Food & Agriculture**, par exemple :

- Eléments traces dans la farine de riz, dans les feuilles d'épinards, dans les tissus d'huître, dans le foie de bœuf, etc.
- Matrices alimentaires constituées de 9 MRCs de compositions différentes en protéines, matières grasses, et sucres.
- Constituants principaux de la bagasse de canne à sucre, du bois de peuplier, de la paille de blé, etc.
- Organismes génétiquement modifiés : maïs et soja.

La catégorie **Microbiologie de l'eau et des aliments** comprend des MRC qui consistent en des capsules remplies de lait en poudre artificiellement contaminé par des bactéries comme la salmonelle ou des coliformes.

La catégorie **Médecine et Santé** contient des MRC très variés :

- Séquences d'ADN mitochondrial
- Métabolites de la marijuana dans l'urine
- Amiante dans des tissus pulmonaires
- Des protéines, des enzymes et des hormones diverses dans le sérum humain.

Eléments moteurs de la production de matériau de référence

Les éléments moteurs qui poussent au développement de nouveaux matériaux de référence sont variés et demanderaient certainement d'être traités au cas par cas, pays par pays. Néanmoins, il est clair que l'introduction de l'**Assurance Qualité** dans les laboratoires est un élément important pour l'utilisation des matériaux de référence, de même que l'arrivée du nouveau référentiel ISO 17025 et la diffusion des nouveaux guides ISO sur les matériaux de référence.

Une enquête (sous forme de questionnaire : Certified Reference Material related questionnaire, PricewaterhouseCoopers N.V.) est actuellement menée auprès des laboratoires de chimie analytique aux Etats Unis, en France, en Allemagne, au Royaume Uni et en Scandinavie pour établir l'état de l'art dans le domaine des matériaux de référence. Il est tout à fait probable que les démarches d'Assurance Qualité effectuées par les laboratoires vont conduire cette enquête à des conclusions différentes de la précédente réalisée en 1998. Il s'agissait d'une étude demandée par la Communauté Européenne sur : « Reference Materials in Europe : an Enquiry into their use and prospects ». La conclusion principale, à l'époque, était que « l'utilisation et l'utilité des matériaux de référence sont insuffisamment connus ».

La **demande du marché** constitue évidemment la motivation principale pour produire de nouveaux matériaux de référence. Tous les secteurs industriels sont concernés mais la pharmacopée, la chimie clinique (MRC d'ADN par exemple), l'agroalimentaire (MRC d'OGM par exemple) et les entreprises concernées par l'environnement (comme les producteurs d'eau potable) sont certainement les plus actifs et en particulier demandeurs de matériaux à matrices (Real World CRMs).

Les **législations** poussent également à l'utilisation de matériau de référence. En Europe, le cadre réglementaire est très strict et le respect des seuils imposés obligent les laboratoires à utiliser des matériaux de référence pour conforter les méthodes analytiques. Dans le domaine de l'environnement, la Directive européenne sur l'Eau (Directive 2000/60/CE, 23 octobre 2000) va favoriser l'introduction de MRC à matrice pour un nombre très important de composés et d'éléments traces puisque l'échéancier est strict et qu'il impose une caractérisation des masses d'eau. Dans le secteur de la chimie clinique, la Directive relative aux dispositifs médicaux de diagnostics in vitro (Directive 98/79/CE, 27 octobre 1998), qui exige une meilleure traçabilité des mesures ouvre un marché de plusieurs dizaines de nouveaux matériaux de référence très élaborés. Ce sont plusieurs centaines de milliers de laboratoires d'analyses médicales qui sont susceptibles d'être des bénéficiaires de ces matériaux. Le marché total européen des diagnostics in vitro (en incluant les instruments, les réactifs, les tests rapides et les tests réalisés par les patients) a été évalué à 6,3 milliards d'€ en 2000.

La **spécificité nationale** peut être aussi un élément important dans le développement d'activités de matériaux de référence.

A la fin des années 90, au Royaume Uni, une partie du programme VAM (Valid Analytical Measurement) financé par le Ministère du Commerce et de l'Industrie a été consacrée aux besoins de l'industrie, en terme de traçabilité, et, à l'issue de l'étude, des matériaux de

référence ont été produits pour essayer de répondre à ces besoins.

Aux Etats-Unis, une des missions du NIST est d'aider les entreprises américaines à être plus performantes et un des moyens pour remplir cette mission est de fournir à l'industrie des matériaux de référence, sans considérer un quelconque profit dans cette opération. Le marché américain est par ailleurs pratiquement fermé aux producteurs de MR des autres pays parce que la législation exige une traçabilité aux matériaux du NIST. C'est le cas par exemple pour l'EPA (Environmental Protection Agency) dans le domaine de la pollution atmosphérique. Le label « traceable to NIST » est devenu pour de nombreux producteurs un argument de vente et même un label de qualité.

En Chine, le NRCCRM produit des MRCs à matrice *eaux de pluie acide* uniquement pour les régions où existent des mines de charbon et des industries associées émettant de fortes quantités de dioxyde de soufre. Ces matériaux sont produits à perte mais ils correspondent à une mission de l'institut de métrologie.

Il est difficile d'obtenir des informations précises de la part des producteurs sur leurs chiffres d'affaire et prix de revient des matériaux de référence. Concernant les laboratoires Nationaux de Métrologie, il est clair que le coût de la recherche et développement d'un matériau de référence n'est jamais répercuté en totalité sur le prix de revient, il n'est en réalité que faiblement répercuté. Cette situation est vraie, même pour les gros producteurs de MRC comme le NIST et l'IRMM. Dans certains cas, il peut y avoir une mévente des MRC et l'activité devient déficitaire.

Les matériaux de référence des secteurs émergents

Historiquement, les meilleurs matériaux de référence ont été développés pour l'industrie sidérurgique au niveau de plusieurs centaines voire plusieurs milliers d'unités. Ils sont parfaitement caractérisés et certifiés à des niveaux de concentrations bien déterminés pour les éléments (environ une vingtaine) qui contribuent aux qualités et aux propriétés des matériaux ferreux, des aciers et des alliages.

Dans les domaines de l'environnement, de la biologie et du biomédical, le nombre de matériaux de référence est bien moindre et ils ne sont pas toujours appropriés en terme de qualité de la matrice ou de niveau de concentration de l'analyte. Les besoins ne sont couverts qu'à 10% en environnement, alors qu'on estime qu'ils le sont à 90% dans le domaine des mesures physiques. Dans les domaines de l'environnement et de la biologie, les matrices sont bien plus nombreuses que dans les secteurs des métaux ferreux, non ferreux et des alliages. On rencontre les matrices suivantes : eaux, sols, sédiments, plantes, tissus animaux et humains et déchets de toutes sortes. Les composés d'intérêt sont aussi infiniment plus nombreux avec un grand nombre d'éléments et une variété considérable de molécules organiques [9, 10].

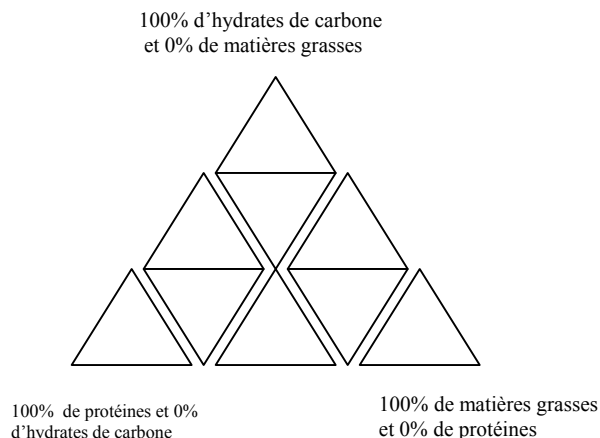
Dans le domaine de l'environnement on considère qu'il existe un matériau de référence certifié pour 25 matériaux de référence (matériaux de contrôle issus d'un

processus de contrôle qualité interne ou d'une intercomparaison entre laboratoires) [11].

En environnement, les premiers matériaux de référence à matrice concernaient des sols, des sédiments et des boues certifiés pour des composés inorganiques (principalement des métaux) à l'état de traces. Des matériaux de référence contenant tous les métaux biologiquement actifs ont été préparés à diverses concentrations : mercure, arsenic, sélénium, étain, plomb, cadmium, cuivre, nickel, chrome. Puis plus récemment, on s'est intéressé à la combinaison organique de ces métaux comme par exemple, le méthylmercure et les différentes espèces du butylétain. Pour ces composés, des matériaux de référence de tissus de moule et de thon ont été développés. Actuellement, les combinaisons organiques de l'étain, du mercure, de l'arsenic et du sélénium sont préparées dans des tissus d'huître.

Dans le domaine agroalimentaire, il est nécessaire de quantifier la composition des aliments préparés industriellement. Aux Etats-Unis en particulier, le Nutrition Labelling and Education Act (1990) exige que l'on spécifie, sur l'emballage, les quantités de matières grasses totales, de matières grasses saturées, de cholestérol, d'hydrates de carbone, de sucre, de protéines, de vitamines et de certains éléments comme le sodium, le calcium et le fer. Il existe donc un besoin de matériaux de référence pour ces composés dans les matrices alimentaires. Le NIST travaille depuis plusieurs années au développement de tels matériaux de référence (food matrix RM) dans des matrices particulières : aliments pour nourrissons, rations de régimes et aliments particuliers (épinards, pâtisseries au chocolat) [12].

Pour cela, le NIST a élaboré un « triangle matières grasses - protéines - hydrates de carbone » (cf figure suivante) pour lequel, à chaque sommet du triangle se trouve les MRC suivants : 100% d'hydrates de carbone et 0% de matières grasses ; 100% de protéines et 0% d'hydrates de carbone ; 100% de matières grasses et 0% de protéines. Le triangle est divisé en 9 secteurs pour lesquels est obtenue une composition particulière en matières grasses, en protéines et en hydrates de carbone. Le NIST développe des matériaux de référence pour chacun des secteurs de façon à couvrir tous les cas de figures possibles de composition de ces constituants primaires.



Dans le domaine biomédical, l'adéquation de la matrice des matériaux de référence avec les échantillons

réels est un critère essentiel de qualité. Cette « commutabilité », c'est à dire la capacité du matériau à présenter des propriétés comparables à celles d'échantillons biologiques réels (de patients par exemple) est la condition de base pour maintenir une chaîne de traçabilité ininterrompue jusqu'à l'utilisateur final, en particulier lors de l'utilisation de systèmes de diagnostic in-vitro. En l'absence de commutabilité, on ne pourrait s'affranchir de l'utilisation de méthodes de référence intermédiaires qui augmenteraient l'incertitude totale.

Dans le domaine biomédical et de la chimie clinique, les premiers matériaux de référence de composés organiques sont apparus dans les années soixante (cholestérol, acide urique, créatinine) et de très nombreux marqueurs de diagnostics cliniques sont apparus dans les dernières décennies. Pourtant on estime qu'actuellement le nombre de composés dont la détermination peut-être traçable au SI (et donc avoir une concentration exprimée en mole/l) est d'environ seulement une centaine. Les substances non-traçables au SI, c'est à dire dont la concentration s'exprime en unités arbitraires ou dont la quantification est encore aléatoire ou irréalisable, seraient environ 600. Parmi ces composés se rencontrent des acides nucléiques, des protéines et d'autres composés d'importance reliés à des fonctions biologiques. L'ensemble des composés non traçables au SI joue un rôle considérable dans les diagnostics médicaux, la protéomique, la thérapie génique, l'ingénierie tissulaire et génétique, etc. Pour tous ces composés existe un besoin immédiat considérable en termes de matériaux de référence et de méthodes d'analyse de référence. La question de la commutabilité des matériaux est cruciale dans ce cas puisque les matrices sont constitués de fluides biologiques et de tissus cellulaires.

Les matériaux de référence « *Real World* » des nouveaux secteurs sont des matériaux fragiles et sensibles qui nécessitent des conditions de stockage spécifiques. Ces matériaux doivent aussi être contrôlés périodiquement. En moyenne, on estime que le coût du stockage représente au moins 25% du prix de revient. Ce coût augmentera sensiblement dans les années à venir compte-tenu de la forte demande de matériaux de référence à matrice « in vivo », c'est-à-dire proche des tissus ou des organes vivants. Ces matériaux habituellement lyophilisés devront être congelés et maintenus en congélateur à basse température. Le coût du stockage et du transport devient alors conséquent. On prévoit des coûts de quelques centaines d'€ pour ces matériaux de référence, ceux-ci dépendront de manière étroite du nombre d'unités produites. Le coût du processus de certification ne constituera plus alors le coût principal du matériau.

Conclusions

Les exigences en matière de certification des matériaux de référence ont radicalement évolué ces dernières années avec les demandes des secteurs émergents où existent de multiples analytes dans une grande diversité de matrices. En dehors de la certification, de fortes exigences apparaissent également dans la préparation des matériaux de référence, la caractérisation, le contrôle, le stockage et la distribution.

Compte-tenu de ces difficultés à produire ces matériaux de référence dans le domaine de l'environnement et de la biologie, les matériaux de référence certifiés resteront chers et encore peu nombreux dans les prochaines années. Il est possible qu'on voit alors se développer des matériaux de référence bon marché, non certifiés, qui seront des matériaux de référence de laboratoire. Ces matériaux seront utilisés dans les laboratoires d'analyses environnementales, de contrôle qualité dans l'industrie agro-alimentaire et dans les laboratoires de médecine, pour des mesures journalières, de routine, de contrôle qualité. Ces matériaux de référence permettront de contrôler de nombreux analytes dans différentes matrices, dans une large gamme de concentrations. Ces matériaux de référence seront raccordés, de manière périodique à des matériaux de référence certifiés homologues présentant les plus hautes qualités de stabilité et d'homogénéité.

Références

1. Marschal A, Andrieux T, Compagnon PA, Fabre H (2002) *Accred Qual Assur* 7: 42-49.
2. Marschal A (1994) Traceability and calibration in analytical chemistry. Proc Symposium EUROLAB, Florence, Italia.
3. Marschal A. (1997) Chemical metrology laboratories: their task, their tools, their contributions to biological and environmental analyses. Proc BERM-7, Antwerpen, Belgium.
4. ISO Guide 32 (1997) Etalonnage en chimie analytique et utilisation des matériaux de référence certifiés. ISO, Geneva, Switzerland.
5. Majcen N. (2003) *Accred Qual Assur* 8 :108-112.
6. Terms and definitions used in connection with reference material, ISO Guide 30 (1992).
7. The role of reference materials, achieving quality in analytical chemistry, ISO Information booklet (2000).
8. EEE-RM Working Group (2001) The selection and use of reference materials, a basic guide for laboratories and accreditation bodies.
9. Quevauviller Ph (2002) Matériaux de référence pour l'environnement, Editions TEC & DOC, Lavoisier Ed.
10. Pauwels J, Lamberty A (2001) *Fresenius J Anal Chem* 370:111-114.
11. Muntau H.(2001) *Fresenius J Anal Chem* 370:134-141.
12. Sharpless K., Colbert J., Greenberg R., Schantz M., Welch M. (2001) *Fresenius J Anal Chem* 370:275-278.