



COLLECTION SANTÉ HUMAINE DE L'AIEA

N° 13

Introduction à l'évaluation
de la composition corporelle
par dilution de deutérium
grâce à l'analyse d'échantillons
d'urine par spectrométrie
de masse isotopique



IAEA

Agence internationale de l'énergie atomique

PUBLICATIONS DANS LA COLLECTION SANTÉ HUMAINE DE L'AIEA

Le mandat du programme de la santé humaine tient son origine dans l'article II du Statut de l'AIEA, qui stipule que « l'Agence s'efforce de hâter et d'accroître la contribution de l'énergie atomique à la paix, la santé et la prospérité dans le monde entier ». Le programme de la santé humaine a pour principal objet de renforcer la capacité des États Membres de l'AIEA à satisfaire leurs besoins en matière de prévention, de diagnostic et de traitement des problèmes de santé grâce à la mise au point et à l'application de techniques nucléaires dans un cadre d'assurance de la qualité.

Les publications paraissant dans la collection Santé humaine de l'AIEA traitent des domaines suivants : la médecine radiologique, y compris la radiologie diagnostique, la médecine nucléaire diagnostique et thérapeutique, et la radiothérapie ; la dosimétrie et la radiophysique médicale ; et les techniques faisant appel aux isotopes stables et autres applications nucléaires dans le domaine de la nutrition. Ces publications intéressent un grand nombre de lecteurs et sont destinées aux praticiens, aux chercheurs et à d'autres professionnels. Des experts internationaux aident le Secrétariat de l'AIEA à les rédiger et les réviser. Certaines des publications paraissant dans la présente collection peuvent aussi être approuvées ou coparrainées par des organisations internationales et des associations professionnelles actives dans les domaines pertinents.

Cette collection comprend deux catégories de publications :

COLLECTION SANTÉ HUMAINE DE L'AIEA

Cette catégorie de publications présente des analyses ou des informations qui revêtent un caractère consultatif, comme des guides, des codes et des normes de pratique, et des manuels d'assurance de la qualité. Des monographies et du matériel didactique de haut niveau, comme des manuels de troisième cycle, sont aussi publiés dans cette collection.

RAPPORTS SUR LA SANTÉ HUMAINE DE L'AIEA

Les rapports sur la santé humaine complètent les informations publiées dans la collection Santé humaine de l'AIEA dans le domaine de la médecine radiologique, de la dosimétrie et de la radiophysique médicale, et de la nutrition. Ils comprennent des rapports de réunions techniques, les résultats des projets de recherche coordonnée de l'AIEA, des rapports intermédiaires sur des projets de l'AIEA, et du matériel didactique compilé pour des cours de l'AIEA traitant de sujets liés à la santé humaine. Dans certains cas, ces rapports peuvent servir de documents d'appui à des publications parues dans la collection Santé humaine de l'AIEA.

Toutes ces publications peuvent être téléchargées gratuitement sur le site web de l'AIEA :
<http://www.iaea.org/Publications/index.html>

Pour de plus amples informations :

Unité de la promotion et de la vente
Agence internationale de l'énergie atomique
Centre international de Vienne
B.P. 100
1400 Vienne (Autriche)

Les lecteurs sont invités à partager leurs impressions sur ces publications. Les informations peuvent être communiquées sur le site web de l'AIEA, par courrier à l'adresse mentionnée plus haut ou par courriel à :

Official.Mail@iaea.org

INTRODUCTION À
L'ÉVALUATION DE LA COMPOSITION CORPORELLE
PAR DILUTION DE DEUTÉRIUM
GRÂCE À L'ANALYSE D'ÉCHANTILLONS D'URINE
PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE ISOTOPIQUE

Les États ci-après sont Membres de l'Agence internationale de l'énergie atomique :

AFGHANISTAN	GRÈCE	PALAOS
AFRIQUE DU SUD	GUATEMALA	PANAMA
ALBANIE	HAÏTI	PAPOUASIE-NOUVELLE-GUINÉE
ALGÉRIE	HONDURAS	PARAGUAY
ALLEMAGNE	HONGRIE	PAYS-BAS
ANGOLA	ÎLES MARSHALL	PÉROU
ARABIE SAOUDITE	INDE	PHILIPPINES
ARGENTINE	INDONÉSIE	POLOGNE
ARMÉNIE	IRAN, RÉP. ISLAMIQUE D'	PORTUGAL
AUSTRALIE	IRAQ	QATAR
AUTRICHE	IRLANDE	RÉPUBLIQUE ARABE
AZERBAÏDJAN	ISLANDE	SYRIENNE
BAHREÏN	ISRAËL	RÉPUBLIQUE
BANGLADESH	ITALIE	CENTRAFRICAINE
BÉLARUS	JAMAÏQUE	RÉPUBLIQUE DE MOLDOVA
BELGIQUE	JAPON	RÉPUBLIQUE DÉMOCRATIQUE
BELIZE	JORDANIE	DU CONGO
BÉNIN	KAZAKHSTAN	RÉPUBLIQUE DÉMOCRATIQUE
BOLIVIE	KENYA	POPULAIRE LAO
BOSNIE-HERZÉGOVINE	KIRGHIZISTAN	RÉPUBLIQUE DOMINICAINE
BOTSWANA	KOWEÏT	RÉPUBLIQUE TCHÈQUE
BRÉSIL	LESOTHO	RÉPUBLIQUE-UNIE DE
BULGARIE	LETTONIE	TANZANIE
BURKINA FASO	L'EX-RÉPUBLIQUE YOUNGO-	ROUMANIE
BURUNDI	SLAVE DE MACÉDOINE	ROYAUME-UNI
CAMBODGE	LIBAN	DE GRANDE-BRETAGNE
CAMEROUN	LIBÉRIA	ET D'IRLANDE DU NORD
CANADA	LIBYE	RWANDA
CHILI	LIECHTENSTEIN	SAINT-SIÈGE
CHINE	LITUANIE	SÉNÉGAL
CHYPRE	LUXEMBOURG	SERBIE
COLOMBIE	MADAGASCAR	SEYCHELLES
CONGO	MALAISIE	SIERRA LEONE
CORÉE, RÉPUBLIQUE DE	MALAWI	SINGAPOUR
COSTA RICA	MALI	SLOVAQUIE
CÔTE D'IVOIRE	MALTE	SLOVÉNIE
CROATIE	MAROC	SOUDAN
CUBA	MAURICE	SRI LANKA
DANEMARK	MAURITANIE,	SUÈDE
DOMINIQUE	RÉP. ISLAMIQUE DE	SUISSE
ÉGYPTE	MEXIQUE	SWAZILAND
EL SALVADOR	MONACO	TADJIKISTAN
ÉMIRATS ARABES UNIS	MONGOLIE	TCHAD
ÉQUATEUR	MONTÉNÉGRO	THAÏLANDE
ÉRYTHRÉE	MOZAMBIQUE	TOGO
ESPAGNE	MYANMAR	TRINITÉ-ET-TOBAGO
ESTONIE	NAMIBIE	TUNISIE
ÉTATS-UNIS	NÉPAL	TURQUIE
D'AMÉRIQUE	NICARAGUA	UKRAINE
ÉTHIOPIE	NIGER	URUGUAY
FÉDÉRATION DE RUSSIE	NIGERIA	VENEZUELA,
FIDJI	NORVÈGE	RÉP. BOLIVARIENNE DU
FINLANDE	NOUVELLE-ZÉLANDE	VIETNAM
FRANCE	OMAN	YÉMEN
GABON	OUGANDA	ZAMBIE
GÉORGIE	OUZBÉKISTAN	ZIMBABWE
GHANA	PAKISTAN	

Le Statut de l'Agence a été approuvé le 23 octobre 1956 par la Conférence sur le Statut de l'AIEA, tenue au Siège de l'Organisation des Nations Unies, à New York ; il est entré en vigueur le 29 juillet 1957. L'Agence a son Siège à Vienne. Son principal objectif est « de hâter et d'accroître la contribution de l'énergie atomique à la paix, la santé et la prospérité dans le monde entier ».

COLLECTION SANTÉ HUMAINE DE L'AIEA N° 13

INTRODUCTION À L'ÉVALUATION
DE LA COMPOSITION CORPORELLE
PAR DILUTION DE DEUTÉRIUM
GRÂCE À L'ANALYSE
D'ÉCHANTILLONS
D'URINE PAR SPECTROMÉTRIE
DE MASSE ISOTOPIQUE

AGENCE INTERNATIONALE DE L'ÉNERGIE ATOMIQUE
VIENNE, 2013

DROIT D'AUTEUR

Toutes les publications scientifiques et techniques de l'AIEA sont protégées par les dispositions de la Convention universelle sur le droit d'auteur adoptée en 1952 (Berne) et révisée en 1972 (Paris). Depuis, le droit d'auteur a été élargi par l'Organisation mondiale de la propriété intellectuelle (Genève) à la propriété intellectuelle sous forme électronique. La reproduction totale ou partielle des textes contenus dans les publications de l'AIEA sous forme imprimée ou électronique est soumise à autorisation préalable et habituellement au versement de redevances. Les propositions de reproduction et de traduction à des fins non commerciales sont les bienvenues et examinées au cas par cas. Les demandes doivent être adressées à la Section d'édition de l'AIEA :

Unité de la promotion et de la vente, Section d'édition
Agence internationale de l'énergie atomique
Centre international de Vienne
B.P. 100
1400 Vienne, Autriche
télécopie : +43 1 2600 29302
téléphone : +43 1 2600 22417
courriel : sales.publications@iaea.org
<http://www.iaea.org/books>

© AIEA, 2013

Imprimé par l'AIEA en Autriche
November 2013
STI/PUB/1451

INTRODUCTION À L'ÉVALUATION
DE LA COMPOSITION CORPORELLE
PAR DILUTION DE DEUTÉRIUM
GRÂCE À L'ANALYSE D'ÉCHANTILLONS
D'URINE PAR SPECTROMÉTRIE
DE MASSE ISOTOPIQUE
AIEA, VIENNE, 2013
STI/PUB/1451
ISBN 978-92-0-214113-1
ISSN 2075-3772

AVANT-PROPOS

L'AIEA a promu une utilisation plus large des techniques qui reposent sur des isotopes stables pour évaluer la composition corporelle dans différents groupes de population afin de traiter des questions prioritaires de nutrition qui relèvent de la santé publique dans les États membres. Elle l'a fait en soutenant depuis de nombreuses années des projets nationaux ou régionaux de nutrition par l'intermédiaire du programme de coopération technique et des projets de recherche coordonnée.

La présente publication a été réalisée par un groupe international d'experts dans le but de fournir des indications pratiques sur l'application de ces techniques lorsque l'analyse de rapports d'isotopes stables dans des échantillons biologiques doit être effectuée par spectrométrie de masse isotopique. Elle intéresse les nouveaux utilisateurs de cette méthode, par exemple des nutritionnistes, des chimistes analystes ou d'autres professionnels. On trouvera des informations plus détaillées sur le cadre théorique et l'application pratique des techniques les plus modernes qui permettent de surveiller des changements de composition corporelle dans le n° 3 de la collection Santé humaine de l'AIEA, intitulé *Assessment of Body Composition and Total Energy Expenditure in Humans Using Stable Isotope Techniques*.

L'AIEA remercie les personnes qui ont le plus contribué à l'élaboration de la présente publication (T. Preston, Royaume-Uni ; D. Schoeller, États-Unis d'Amérique ; C. Slater, Royaume-Uni ; M. E. Valencia Juillerat, Mexique) en partageant leurs compétences techniques et leur longue expérience dans le domaine des techniques qui reposent sur des isotopes stables en nutrition.

La présente publication a été établie sous la responsabilité de L. Davidsson, de la Division de la santé humaine.

NOTE DE L'ÉDITEUR

Bien que l'exactitude des informations contenues dans la présente publication ait fait l'objet d'un soin particulier, ni l'AIEA, ni ses États Membres n'assument une quelconque responsabilité pour les conséquences éventuelles de leur utilisation.

L'emploi d'appellations particulières pour désigner des pays ou des territoires n'implique de la part de l'éditeur, l'AIEA, aucune prise de position quant au statut juridique de ces pays ou territoires, ou de leurs autorités et institutions, ni quant au tracé de leurs frontières.

La mention de noms de sociétés ou de produits particuliers (qu'ils soient ou non signalés comme marques déposées) n'implique aucune intention d'empiéter sur des droits de propriété, et ne doit pas être considérée non plus comme valant approbation ou recommandation de la part de l'AIEA.

L'AIEA n'assume aucune responsabilité quant à la persistance ou l'exactitude des adresses URL de sites web externes ou de tiers mentionnées dans le présent rapport et ne peut garantir que le contenu desdits sites est ou demeurera exact ou approprié.

TABLE DES MATIÈRES

1.	INTRODUCTION	1
1.1.	Généralités	1
1.2.	Objectif	1
1.3.	Personnes concernées	1
1.4.	Structure	1
2.	GÉNÉRALITÉS	2
2.1.	Composition corporelle	2
2.2.	Eau corporelle totale	2
2.3.	Deutérium	3
2.3.1.	Analyse de l'enrichissement de l'eau corporelle en deutérium	4
2.4.	Différences entre les techniques d'équilibration et de rétroextrapolation pour l'estimation de l'ECT	4
3.	TECHNIQUE DE L'ÉQUILIBRATION UTILISÉE POUR ESTIMER L'EAU CORPORELLE TOTALE PAR DILUTION DE DEUTÉRIUM	5
3.1.	Vue d'ensemble de cette méthode	5
3.2.	Hypothèses associées à cette technique	6
3.2.1.	Hypothèse 1 : L'eau deutérée ne se diffuse que dans l'eau corporelle	6
3.2.2.	Hypothèse 2 : L'eau deutérée se répartit dans les mêmes proportions dans tous les compartiments eau de l'organisme	7
3.2.3.	Hypothèse 3 : L'équilibration de l'eau deutérée est atteinte rapidement	7
3.2.4.	Hypothèse 4 : Il n'y a pas de perte d'eau deutérée ou d'eau corporelle durant la période d'équilibration	8
3.2.5.	Estimation de l'ECT chez le nourrisson	10
3.3.	Hydratation de la masse maigre	10
3.3.1.	Variation de l'hydratation de la masse maigre chez le nourrisson et l'enfant	11
3.3.2.	Variation de l'hydratation de la masse maigre (MM) durant la grossesse et l'allaitement	12

4.	PROCÉDURES	12
4.1.	Planification de l'Étude	13
4.1.1.	Éthique	13
4.1.2.	Préparation de la fiche de données du participant	14
4.1.3.	Étude pilote	14
4.1.4.	Calcul de la taille de l'échantillon	16
4.2.	Préparation et stockage des doses d'eau deutérée	17
4.2.1.	Matériel	18
4.2.2.	Mode opératoire	18
4.2.3.	Stockage et transport des doses	22
4.2.4.	Préparation de la dose diluée pour l'analyse	23
4.3.	Mesure de l'ECT	24
4.3.1.	Mesures anthropométriques	24
4.3.2.	Administration d'une dose	30
4.3.3.	Nourriture, boissons et activité physique durant la période d'équilibration	31
4.3.4.	Prélèvement d'un échantillon d'urines	32
5.	ANALYSE DE L'ENRICHISSEMENT EN DEUTÉRIUM	36
6.	CALCULS	38
6.1.	Résultats des calculs de composition corporelle	38
6.2.	Calcul de l'ECT	38
6.3.	Exemples de calculs	40
6.3.1.	Calcul du volume cumulé d'urines	40
6.3.2.	Calcul de l'ECT en utilisant les valeurs qui figurent dans les tableaux 6 et 7	40
6.4.	Estimation de la composition corporelle à partir de l'ECT	45
6.5.	Incidence des urines éliminées	46
7.	CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	47
7.1.	Étalonnage du spectromètre	47
7.2.	Précision des analyses	48
7.3.	Variations de mesure	48
7.4.	Détection des valeurs aberrantes	48

8.	RÉCAPITULATIF DES OPÉRATIONS ESSENTIELLES À EFFECTUER POUR QUE LES DONNÉES SOIENT DE BONNE QUALITÉ	49
9.	LISTE DE QUESTIONS-RÉPONSES FRÉQUENTES.....	50
APPENDICE I:	INFORMATIONS GÉNÉRALES CONCERNANT LA SÛRETÉ DE L'EAU DEUTÉRÉE	53
APPENDICE II:	EXEMPLE DE FICHE DE PRÉLÈVEMENT UTILISÉE POUR ESTIMER L'ECT PAR DILUTION D'EAU DEUTÉRÉE	56
APPENDICE III:	LISTE DE MATÉRIEL	57
APPENDICE IV:	FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE.....	59
GLOSSAIRE.....		63
RÉFÉRENCES		67
AUTRES OUVRAGES À CONSULTER		69
PERSONNES AYANT COLLABORÉ À LA RÉDACTION ET À L'EXAMEN		71

1. INTRODUCTION

1.1. GÉNÉRALITÉS

Depuis de nombreuses années, l'AIEA promeut une utilisation plus large des techniques qui reposent sur des isotopes stables pour évaluer la composition corporelle dans différents groupes de population afin de traiter des questions prioritaires de nutrition qui relèvent de la santé publique dans les États Membres. L'objectif est de soutenir des projets nationaux ou régionaux de nutrition par l'intermédiaire du programme de coopération technique et des projets de recherche coordonnée de l'AIEA.

1.2. OBJECTIF

La présente publication a été réalisée par un groupe international d'experts dans le but de fournir des indications pratiques sur l'application de cette technique. Elle est destinée à être utilisée lorsque l'analyse de rapports d'isotopes stables dans des échantillons biologiques doit être effectuée par spectrométrie de masse isotopique (SMI).

1.3. PERSONNES CONCERNÉES

Le présent manuel intéresse les nouveaux utilisateurs de cette méthode, par exemple des nutritionnistes, des chimistes analystes ou d'autres professionnels. On trouvera des informations plus détaillées sur le cadre théorique et l'application pratique des techniques les plus modernes qui permettent de surveiller des changements de composition corporelle dans une publication de l'AIEA intitulée *Assessment of Body Composition and Total Energy Expenditure in Humans Using Stable Isotope Techniques* (n° 3 de la collection Santé humaine de l'AIEA).

1.4. STRUCTURE

À la suite de la présente introduction, la section 2 donne une présentation technique des paramètres relatifs à l'évaluation de la composition corporelle. La section 3 expose la technique d'équilibration utilisée pour estimer l'eau corporelle totale (ECT) par dilution de deutérium. La section 4 décrit en détail les démarches associées à cette méthode, parmi lesquelles la planification de l'étude,

la préparation et le stockage des doses d'eau deutérée, la mesure de l'ECT et les prélèvements d'urine. La section 5 explique comment analyser un enrichissement en deutérium tandis que la section 6 donne des informations détaillées sur la manière d'effectuer les différents calculs nécessaires à l'utilisation de la technique de dilution de deutérium pour évaluer la composition corporelle. La section 7 porte sur les questions de contrôle de la qualité et la section 8 récapitule les opérations essentielles à effectuer pour que les données obtenues soient de bonne qualité. La section 9 contient une liste de questions-réponses fréquentes sur ce sujet. Pour finir, quatre appendices présentent respectivement des informations générales sur la sûreté de l'eau deutérée, une fiche de prélèvement utilisée pour évaluer l'ECT par dilution d'eau deutérée, une liste du matériel nécessaire et le principe du fractionnement isotopique.

2. GÉNÉRALITÉS

2.1. COMPOSITION CORPORELLE

Seul, le poids corporel constitue un indicateur assez médiocre de l'état de santé et nutritionnel d'une personne. En revanche, la composition corporelle, qui s'intéresse aux différents éléments qui contribuent au poids corporel d'un individu, est un chiffre plus significatif. Le corps humain est souvent séparé en deux parties : la masse grasse et la masse maigre. C'est ce que l'on appelle le modèle à deux compartiments.

2.2. EAU CORPORELLE TOTALE

L'eau est le principal constituant du corps humain. À la naissance, ce dernier contient entre 70 et 75 % d'eau, mais cette proportion diminue au fur et à mesure que l'organisme se développe : elle est comprise entre 50 et 60 % chez un adulte mince et est inférieure à 40 % chez un adulte obèse. L'eau ne se trouve que dans la masse maigre et représente environ 73,2 % de celle-ci chez l'adulte. L'eau corporelle totale (ECT) comprend à la fois le liquide intracellulaire et le liquide extracellulaire. Si l'on dispose d'une estimation de l'ECT, il est possible d'évaluer la masse maigre. La masse grasse est la différence entre le poids corporel et la masse maigre.

Lorsqu'un individu est autonome et que l'eau et la nourriture sont disponibles de manière satisfaisante, le compartiment eau de l'organisme évolue constamment, car des molécules d'eau pénètrent dans l'organisme et en sortent fréquemment. L'appareil circulatoire est chargé d'apporter régulièrement des éléments nutritifs aux cellules et d'éliminer les déchets produits par celles-ci. Chaque fois que l'on boit, que l'on consomme de la nourriture qui contient de l'eau ou que l'on fabrique une molécule d'eau lors de l'oxydation d'un substrat énergétique, ces molécules se mélangent à l'eau corporelle. En parallèle, le corps élimine constamment de l'eau de différentes manières, parmi lesquelles l'évaporation par les poumons et la peau et les pertes en eau par les urines et les selles. Chez l'adulte, la taille du compartiment eau de l'organisme reste relativement constante et varie rarement de plus de quelques pour cent au cours d'une même journée ou sur plusieurs jours. Un jour normal, les quantités d'eau qui entrent et qui sortent sont à peu près égales et la masse d'eau corporelle reste à peu près constante [1].

Sur le terrain, l'ECT peut être estimée en diluant de l'eau deutérée. Cette technique présente l'avantage de pouvoir être utilisée pour évaluer les changements longitudinaux dans la composition corporelle qui ont suivi une intervention nutritionnelle. Parmi les autres méthodes de terrain qui permettent d'estimer l'ECT, on peut citer l'analyse d'impédance bioélectrique et les prévisions basées sur l'anthropométrie (poids, taille, sexe et âge). Ces techniques sont moins précises et imposent de déduire des équations de prédiction pour des groupes de population particuliers par comparaison avec une méthode de référence (probablement la dilution de deutérium) sur un échantillon représentatif [2, 3].

2.3. DEUTÉRIUM

Les techniques qui ont recours à des isotopes stables sont utilisées dans les études de nutrition humaine depuis plus de 50 ans. Le deutérium est un isotope stable (non radioactif) de l'hydrogène et son symbole est ^2H . Il est administré par voie orale sous forme d'eau deutérée ($^2\text{H}_2\text{O}$) et, après s'être mélangé à l'eau corporelle, est éliminé du corps par les urines, la salive, la sueur et le lait maternel. L'eau deutérée est traitée par le corps de la même manière que l'eau habituelle et se mélange à l'eau corporelle au bout de quelques heures.

On trouvera davantage d'informations sur l'eau deutérée dans l'appendice I.

2.3.1. Analyse de l'enrichissement de l'eau corporelle en deutérium

L'eau corporelle peut être échantillonnée sous forme de salive, d'urine, de plasma ou de lait maternel et l'enrichissement en deutérium peut être mesuré par SMI en mode double injection ou flux continu [4] ou par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) [5]. Cette dernière technique n'est pas aussi sensible que la SMI et nécessite donc une dose d'eau deutérée plus importante (environ 10 fois plus). La spectroscopie FTIR n'est pas adaptée à l'analyse des urines et du lait maternel.

L'équilibration entre le deutérium et l'eau corporelle s'effectue plus rapidement dans la salive que dans les urines : entre deux et quatre heures pour la salive contre trois à six heures pour les urines (chez un adulte en bonne santé). Toutefois, le fractionnement isotopique introduit de petites erreurs avec la salive en raison des pertes par évaporation et si l'on ne tient pas compte des pertes de deutérium par les urines et des pertes insensibles en eau durant la période d'équilibration. L'estimation de l'ECT est donc la plus précise lorsque l'on effectue un prélèvement d'urines, que les pertes sont comptabilisées et que la teneur en deutérium est mesurée par SMI. À l'origine, cette méthode a été validée pour l'analyse chimique de cadavres.

2.4. DIFFÉRENCES ENTRE LES TECHNIQUES D'ÉQUILIBRATION ET DE RÉTROEXTRAPOLATION POUR L'ESTIMATION DE L'ECT

Le présent manuel décrit la méthode d'estimation de l'ECT par dilution de deutérium en appliquant la technique de l'équilibration à des échantillons d'urines et en analysant le deutérium par SMI. Cette technique peut être utilisée chez l'enfant et l'adulte, mais lorsque la vitesse de renouvellement de l'eau dans le corps est élevée, par exemple chez le nourrisson ou l'adulte qui pratique une activité physique intense, la rétroextrapolation donne des résultats plus précis. La détermination de la composition corporelle par cette dernière technique est réalisée en appliquant la méthode d'estimation de la dépense énergétique totale à l'aide d'eau doublement marquée [6] et, chez les femmes allaitantes, en suivant la technique de la dose administrée à la mère utilisée pour estimer la quantité de lait maternel consommée par des bébés nourris au sein [7]. La technique de la rétroextrapolation consiste à mesurer la vitesse de renouvellement de l'eau sur une période de deux semaines chez l'adulte et de sept jours chez l'enfant (entre trois et quatre cycles de renouvellement de l'eau). Par conséquent, un des avantages de la méthode de l'équilibration, c'est que les prélèvements sont effectués en une seule journée.

3. TECHNIQUE DE L'ÉQUILIBRATION UTILISÉE POUR ESTIMER L'EAU CORPORELLE TOTALE PAR DILUTION DE DEUTÉRIUM

3.1. VUE D'ENSEMBLE DE CETTE MÉTHODE

Cette technique comporte les étapes suivantes :

- L'eau corporelle contient naturellement une petite proportion de deutérium (^2H). Celle-ci représente la teneur naturelle du deutérium dans l'eau corporelle et est généralement proche de 0,015 %.
- Après qu'un échantillon de référence a été prélevé, une quantité connue d'eau deutérée (dont la teneur isotopique en deutérium s'élève à 99,8 ou 99,9 %) est ingérée (0,05 g/kg de poids corporel pour un adulte). L'eau deutérée a pour formule chimique D_2O .
- Le $^2\text{H}_2\text{O}$ se mélange avec l'eau corporelle au bout de quelques heures (fig. 1). La quantité de deutérium présente dans cette eau en plus de celle qui est naturellement présente est appelée enrichissement de l'eau corporelle. Cet enrichissement atteint un plateau au bout d'une période comprise entre deux et cinq heures.

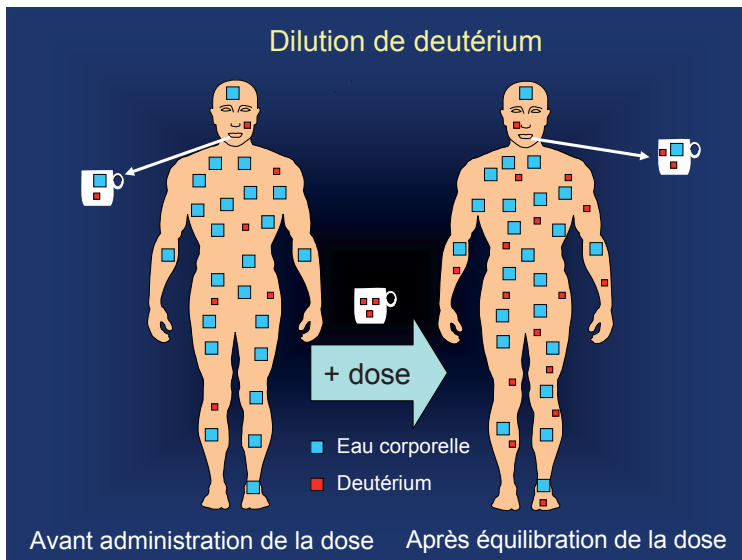


FIG. 1. Estimation de l'ECT par dilution de deutérium.

- Comme la vessie ne se vide jamais complètement, du retard et un mélange avec de l'eau plus ancienne peuvent se produire. Il est recommandé de prélever deux échantillons d'urine une fois que l'enrichissement a atteint le plateau. Il est donc nécessaire d'effectuer ces prélèvements jusqu'à six ou huit heures après que la dose a été administrée.
- Le volume de tous les liquides consommés durant la période d'équilibration doit être noté.
- L'enrichissement des échantillons d'urine en ^2H peut être mesuré par spectrométrie de masse isotopique en flux continu.

3.2. HYPOTHÈSES ASSOCIÉES À CETTE TECHNIQUE

La technique d'estimation de l'ECT par dilution de deutérium repose sur les hypothèses suivantes [1] :

- L'eau deutérée ne se diffuse que dans l'eau corporelle ;
- L'eau deutérée se répartit dans les mêmes proportions dans tous les compartiments eau de l'organisme (par exemple, la salive, les urines, le plasma, la sueur et le lait maternel) ;
- L'équilibration de l'eau deutérée est atteinte rapidement ;
- Il n'y a pas de perte d'eau deutérée ou d'eau corporelle durant la période d'équilibration.

Lorsque ces hypothèses ne sont pas valables, il convient d'intégrer un coefficient de correction au calcul de l'ECT ou de prendre des précautions particulières afin d'atténuer autant que possible les conséquences de cette situation. Ces hypothèses sont examinées une à une dans les paragraphes suivants.

3.2.1. Hypothèse 1 : L'eau deutérée ne se diffuse que dans l'eau corporelle

Cette hypothèse est fausse. Le deutérium contenu dans l'eau corporelle pénètre dans d'autres compartiments de l'organisme. C'est ce que l'on appelle les échanges non aqueux :

- Échanges entre le deutérium et des atomes d'hydrogène échangeables dans les protéines du corps. Les atomes d'hydrogène échangeables sont ceux qui font partie des groupes amines ($-\text{NH}_2$), hydroxyles ($-\text{OH}$) et carboxyles ($-\text{COOH}$) des acides aminés.
- Le deutérium est également emprisonné dans les graisses et dans les protéines lorsqu'elles sont synthétisées.

C'est pourquoi le volume de distribution du deutérium est légèrement plus grand que l'ECT : ce volume (appelé par convention N_D lorsqu'il est exprimé en moles de H_2O) est égal à 1,041 fois l'ECT. N_D est calculé à partir de la dose d'eau deutérée administrée et de l'enrichissement des urines. Les calculs correspondants seront détaillés ultérieurement (voir la section 6).

3.2.2. Hypothèse 2 : L'eau deutérée se répartit dans les mêmes proportions dans tous les compartiments eau de l'organisme

Cette hypothèse est vraie pour l'eau qui reste dans le corps, mais pas pour l'eau qui en sort sous forme de vapeur d'eau car celle-ci est soumise à un fractionnement isotopique. Il n'y a pas de fractionnement dans les urines, l'eau des selles et la sueur. Cette dernière est sécrétée par les glandes sudoripares sous forme d'eau liquide et l'évaporation n'a lieu qu'une fois que cette eau ne fait plus partie de l'eau corporelle. Elle n'est donc pas fractionnée lorsqu'elle quitte l'organisme. En revanche, l'eau qui sort du corps sous forme de vapeur d'eau au cours de la respiration ou par évaporation transdermique est soumise au fractionnement. L'évaporation transdermique est une perte insensible en eau par la peau sans que cette eau soit sécrétée par les glandes sudoripares. L'effet d'une augmentation de cette perte en eau, sachant que celle-ci contient moins de deutérium que l'eau corporelle, est de concentrer l'eau deutérée qui reste, ce qui conduit à une sous-estimation de l'ECT et par conséquent à une surestimation de la masse grasse. Il est important d'éviter les activités physiques durant la période d'équilibration afin de ne pas accroître le rythme respiratoire et l'évaporation transdermique.

3.2.3. Hypothèse 3 : L'équilibration de l'eau deutérée est atteinte rapidement

Cette hypothèse est valable pour les personnes en bonne santé, mais l'eau se renouvelle plus lentement chez les personnes âgées, les femmes enceintes et les patients dont le volume d'eau extracellulaire est important (comme les enfants dénutris qui présentent un œdème) et en cas de choc systémique. Il faut par conséquent prévoir une durée d'équilibration plus longue pour ces participants :

- L'équilibration est le processus au cours duquel l'eau deutérée se mélange de manière homogène avec toute l'eau corporelle. À l'issue de ce processus, la concentration en deutérium est la même dans tous les compartiments eau de l'organisme.
- L'équilibration entre la dose enrichie et l'eau corporelle n'est pas instantanée. Pour la salive, cela se fait rapidement, mais pour les

urines, surtout chez les personnes âgées qui présentent un résidu vésical postmictionnel, l'équilibration peut prendre quelques heures. La question est de savoir combien de temps il faut attendre pour que l'équilibration soit achevée.

- Chez les adultes en bonne santé, l'équilibration est d'ordinaire achevée au bout de deux à cinq heures. Les figures 2 à 4 présentent des résultats habituels pour des patients de différents âges. L'eau se renouvelle en général plus rapidement chez l'enfant que chez l'adulte et plus rapidement chez le jeune adulte que chez l'adulte âgé. Divers états pathologiques peuvent avoir une incidence sur la vitesse de renouvellement, il importe donc d'effectuer une petite étude pilote afin de déterminer le délai requis pour les prélèvements avant de démarrer l'étude principale. Si l'on demande aux participants de fournir trois échantillons d'urines, on obtient en général deux échantillons pour lesquels l'enrichissement est égal à la valeur plateau. Habituellement, le plateau n'est pas atteint pour le premier échantillon et celui-ci n'est donc pas utilisé pour calculer l'ECT, mais les pertes de deutérium par les urines.

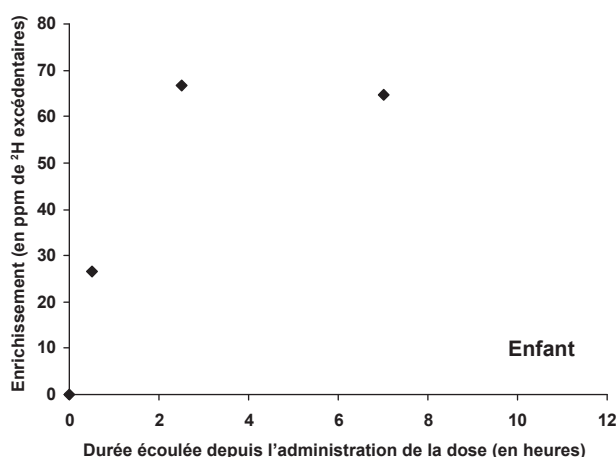


FIG. 2. Équilibration de l'eau deutérée dans les urines chez un enfant en bonne santé.

3.2.4. Hypothèse 4 : Il n'y a pas de perte d'eau deutérée ou d'eau corporelle durant la période d'équilibration

Cette hypothèse n'est probablement pas exacte, mais il est possible de prendre des précautions pour limiter les pertes autant que possible. L'eau

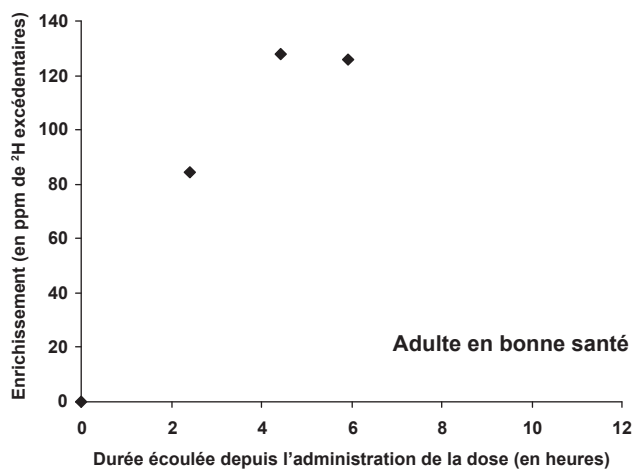


FIG. 3. Équilibration de l'eau deutérée dans les urines chez un jeune adulte en bonne santé.

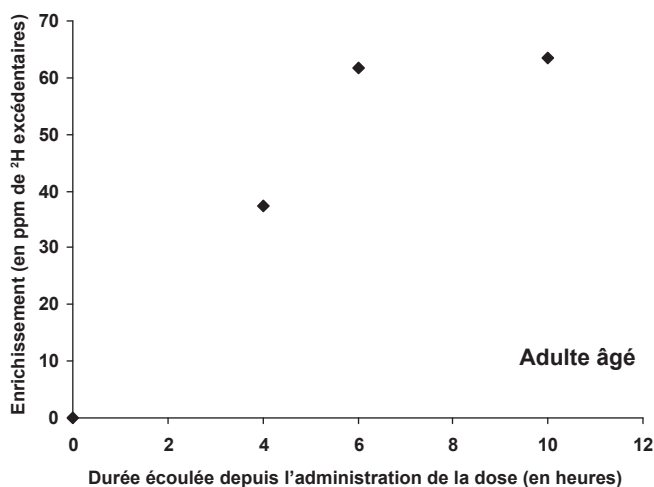


FIG. 4. Équilibration de l'eau deutérée dans les urines chez une personne âgée.

corporelle ne forme pas un circuit fermé, c'est un système dynamique à plusieurs entrées (boisson, nourriture et eau métabolique) et sorties (urines, selles, sueur, respiration, etc.). En climat tempéré, environ 8 % de l'eau corporelle d'un adulte se renouvelle tous les jours. Ce renouvellement est de 50 à 100 % plus élevé lorsque le climat est tropical en raison de pertes insensibles en eau par les poumons et par la peau plus importantes. Lorsque l'ECT est mesurée en utilisant la technique de l'équilibration décrite ici, on peut demander aux participants

d'éviter toute activité physique durant la période d'équilibration et ainsi réduire au minimum les pertes insensibles en eau. Les pertes de deutérium par les urines sont mesurées et l'ECT calculée en tient compte.

3.2.5. Estimation de l'ECT chez le nourrisson

Pour évaluer l'ECT chez un nourrisson, il est préférable d'appliquer la méthode de la rétroextrapolation [8]. Si l'on envisage de procéder à une telle évaluation, il est recommandé de faire appel à un expert, car des précautions particulières doivent être prises afin de s'assurer que les doses ont été correctement administrées et afin d'éviter tout fractionnement isotopique dans les urines.

3.3. HYDRATATION DE LA MASSE MAIGRE

Le modèle de la composition corporelle à deux compartiments divise l'organisme en masse grasse et en masse maigre. L'hydratation de la masse maigre désigne sa teneur en eau. On admet que la masse maigre contient 73,2 % d'eau chez l'adulte (âgé de 21 ans ou plus).

$$\text{MM (en kg)} = \text{ECT (en kg)} \div 0,732$$

Chez tous les mammifères, l'hydratation cellulaire est contrôlée de manière très stricte. C'est dans l'ouvrage classique de Pace et Rathburn [9] que l'on trouve le coefficient d'hydratation généralement utilisé, c'est-à-dire 0,732. Des études *in vivo* menées chez l'adulte montrent que l'âge n'a aucune incidence sur cette constante jusqu'à 70 ans [10, 11]. Les facteurs qui peuvent induire une variation individuelle de l'hydratation de la masse maigre ont été décrits par Wang et al. [12]. Cette masse peut varier de 2 à 3 % (écart type) chez un adulte en bonne santé [13, 14]. Ces chiffres tiennent compte à la fois des erreurs de mesure et des variations physiologiques. La variation physiologique réelle qui est associée à l'hydratation de la masse maigre chez l'adulte en bonne santé ne peut être évaluée si l'on ne connaît pas l'erreur induite par la mesure. Schoeller estime que l'erreur de mesure moyenne s'élève à 1 %. L'écart type intralaboratoire associé à la mesure de l'hydratation *in vivo* est estimé à 1,1 % et la variation physiologique à 0,5 %, ce qui est assez faible [1].

3.3.1. Variation de l’hydratation de la masse maigre chez le nourrisson et l’enfant

Le coefficient d’hydratation de 0,732 appliqué chez l’adulte ne peut être utilisé pour des nourrissons et des enfants. On sait que l’hydratation des tissus maigres varie à mesure que l’organisme se développe durant la petite enfance. La masse musculaire des nouveau-nés est relativement petite par rapport à leur poids corporel. Durant l’enfance, au fur et à mesure que la part de la masse musculaire augmente, l’hydratation de la masse maigre diminue [15, 16]. Lohman a proposé des coefficients d’hydratation pour les enfants et les adolescents (tableau 1). Pour les nourrissons, on applique souvent les coefficients d’hydratation de Fomon (tableau 2) pour convertir l’ECT en masse maigre [17]. Butte et al. [18] présentent également des données sur la composition corporelle des nourrissons. Par ailleurs, l’hydratation de la masse maigre chez les nourrissons a été examinée par Fomon et Nelson [19]. En revanche, on ne dispose pas de chiffres pour les nourrissons nés prématurément. C’est pourquoi, tant que cette situation perdure, les évaluations de la masse grasse chez les nourrissons prématurés doivent utiliser des modèles de composition corporelle à trois ou quatre compartiments [20].

TABEAU 1. HYDRATATION DE LA MM (EN %) CHEZ LES ENFANTS ET LES ADOLESCENTS *(reproduit avec l’autorisation de l’auteur [16])*

Âge (en années)	Garçons	Filles
1	79	78,8
1-2	78,6	78,5
3-4	77,8	78,3
5-6	77	78
7-8	76,8	77,6
9-10	76,2	77
11-12	75,4	76,6
13-14	74,7	75,5
15-16	74,2	75
17-20	73,8	74,5

TABLEAU 2. HYDRATATION DE LA MM (EN %) CHEZ LE NOURRISSON
(reproduit avec l'autorisation de l'auteur [17])

Âge (en mois)	Garçons	Filles
Naissance	80,6	80,6
1	80,5	80,5
2	80,3	80,2
3	80	79,9
4	79,9	79,7
5	79,7	79,5
6	79,6	79,4
9	79,3	79
12	79	78,8
18	78,5	78,4
24	78,1	78,2

3.3.2. Variation de l'hydratation de la masse maigre (MM) durant la grossesse et l'allaitement

Pendant la grossesse, la teneur en eau de la masse maigre (le coefficient d'hydratation) augmente [21]. Il n'y a pas aujourd'hui unanimité au sujet des coefficients d'hydratation les plus adaptés aux différentes étapes de la grossesse. La technique de dilution de deutérium n'est donc pas recommandée pour évaluer la composition corporelle en s'appuyant sur un modèle à deux compartiments chez la femme au cours des deuxième et troisième trimestres de grossesse.

Pour les femmes allaitantes ou au cours du premier trimestre de grossesse, on utilise généralement le coefficient d'hydratation classique, soit 0,732.

4. PROCÉDURES

Les paragraphes suivants décrivent en détail les étapes et les procédures associées à la méthode d'estimation de l'ECT par dilution de deutérium, à savoir :

- La planification de l'étude ;
- La préparation et le stockage des doses d'eau deutérée ;

- Les mesures anthropométriques effectuées sur les participants ;
- Les prélèvements d'urines et la conservation des échantillons ;
- L'analyse de l'enrichissement en deutérium ;
- Les calculs.

Il n'entre pas dans le cadre du présent document de présenter en détail l'analyse de l'enrichissement des échantillons d'urine en deutérium par SMI.

4.1. PLANIFICATION DE L'ÉTUDE

Une étude doit être planifiée avec soin si l'on veut aboutir à un résultat satisfaisant. Lorsque l'on engage une étude, la phase la plus importante est celle où l'on détermine son objectif. Il convient de se concentrer sur une seule grande question. Quelle est l'hypothèse qui est examinée ?

- Combien de participants sont-ils nécessaires pour traiter cette question ? Il convient de calculer la taille de l'échantillon requis et de demander conseil à un biostatisticien sur cette question.
- Comment les données seront-elles gérées ? Quels seront les tests statistiques effectués ? Il convient de demander conseil à un expert durant la phase de planification et non une fois que les données ont été recueillies.
- Quelle est la procédure à suivre pour obtenir une autorisation éthique ?

4.1.1. Éthique

Toutes les études auxquelles participent des êtres humains doivent être examinées et approuvées par le comité local d'éthique. La plupart des revues de premier plan n'acceptent pas de publier un article si elles ne disposent pas d'une attestation indiquant qu'il a été approuvé par ce comité. Celui-ci est généralement constitué de médecins, de scientifiques et de non-spécialistes, dont des personnalités religieuses et du monde associatif, ainsi que d'un avocat ou d'un juriste. Ce comité peut siéger au Ministère de la santé, au Ministère des sciences ou à l'université locale. Il convient de le contacter relativement tôt afin de connaître la procédure à suivre pour obtenir une autorisation éthique et de se procurer des exemplaires des documents nécessaires.

Les participants doivent être informés de l'objectif de l'étude dans une langue adaptée à la situation locale. Ils doivent consentir librement et de manière éclairée à participer à l'étude et être informés qu'ils sont libres de se retirer à n'importe quel moment au cours de celle-ci.

Voici un exemple du type d'informations demandées par les comités d'éthique (les détails peuvent varier en fonction des circonstances locales) :

- L'objectif de l'étude envisagée, clairement énoncé ;
- Un résumé de la conception et de la méthodologie de l'étude, y compris des détails concernant la taille de l'échantillon envisagée, en donnant des indications sur les calculs effectués pour déterminer la taille nécessaire pour l'échantillon ;
- Une vue d'ensemble des considérations éthiques associées au projet d'étude ;
- Des détails sur la manière dont le consentement sera obtenu, y compris une fiche d'information à la formulation simple et non technique ;
- Qui aura accès aux données et quelles seront les mesures prises pour préserver l'anonymat des participants ;
- Qui sont les chercheurs (y compris les assistants) qui mèneront l'étude et quels sont leurs titres et leur expérience ;
- Lieu(x) où le projet sera réalisé ;
- Dates de début et de fin envisagées.

L'appendice I contient des informations sur la sûreté de l'eau deutérée qui peuvent être utiles lors de la préparation des demandes d'autorisation éthique.

4.1.2. Préparation de la fiche de données du participant

Les données correspondant à chaque participant doivent être correctement relevées. Pour ce faire, une méthode peu coûteuse consiste à se servir de documents papiers sur le terrain, documents qui peuvent être ultérieurement transférés sur un tableur. Le tableau 3 présente les informations minimales requises, mais des renseignements supplémentaires spécifiques à l'étude seront également nécessaires, par exemple des renseignements concernant l'état de santé du participant. La fiche doit être élaborée lors de la planification de sorte qu'elle puisse être évaluée et, si nécessaire, modifiée pendant l'étude pilote. Elle peut être conçue à l'aide d'un logiciel de traitement de texte ou d'un tableur et reproduite autant de fois qu'il est nécessaire. On trouvera un exemple de fiche de données du participant dans l'appendice II.

4.1.3. Étude pilote

Si la technique décrite dans la présente publication n'a jamais été utilisée auparavant, il est recommandé de réaliser une étude pilote avant d'engager l'étude principale.

L'étude pilote est importante pour :

- Appliquer et tester les procédures, y compris le prélèvement et l'analyse des échantillons et la gestion des données ;
- Former toutes les personnes concernées ;
- Définir les tâches de routine et développer le travail en équipe ;
- Élaborer des stratégies pour surmonter les difficultés pratiques.

TABLEAU 3. INFORMATIONS MINIMALES REQUISES POUR LA FICHE DE DONNÉES DU PARTICIPANT

Nom ou code du projet		
Date		
Nom ou initiales du chercheur		
Données relatives au participant		
Identifiant du participant pour l'étude		
Poids du participant (en kg)		
Numéro de dose		
Poids de la dose (en g)		
Date et heure d'administration de la dose		
Volume d'eau consommé (en L)		
Données relatives aux échantillons		
	Date et heure	Volume
Prélèvement d'urine de référence		
Premier prélèvement d'urine effectué après administration de la dose		
Deuxième prélèvement d'urine effectué après administration de la dose		
Troisième prélèvement d'urine effectué après administration de la dose		

Pour une étude pilote, le nombre de participants est généralement assez faible. Ce type d'étude peut permettre de vérifier la durée d'équilibration dans les circonstances particulières de l'étude [22, 23]. L'état physiologique des participants a une incidence sur le renouvellement de l'eau. L'âge, l'état de santé et le climat influent également sur ce renouvellement.

4.1.4. Calcul de la taille de l'échantillon

Pour toute étude, il convient de s'assurer que le nombre de participants prévu est suffisant pour obtenir une réponse fiable à la question posée. La détermination de la taille de l'échantillon ou des calculs de puissance représentent une part importante de la planification d'une étude et sont exigés par les comités d'éthique et les organismes de financement. Un calcul de puissance peut être effectué afin de déterminer la taille de l'échantillon nécessaire pour obtenir une réponse fiable. Il convient de demander conseil à un biostatisticien concernant la détermination de la taille de l'échantillon. Les calculs de puissance peuvent être réalisés à l'aide d'un logiciel de statistiques.

Pour calculer la taille de l'échantillon requise, il faut connaître l'écart type (σ) des paramètres de la composition corporelle dans une population similaire à celle qui est étudiée et fixer la différence (δ) entre des groupes de l'étude qui sera considérée comme significative. Avant de consulter le biostatisticien, il convient d'effectuer une recherche documentaire afin d'obtenir cette information. En santé publique, où les mesures ont lieu dans des centres locaux, le nombre de participants requis est plus élevé que dans un laboratoire de recherche, où les mesures sont réalisées dans des conditions soigneusement contrôlées.

La puissance d'une étude est généralement exprimée sous forme de pourcentage du temps où une étude détecte un résultat significatif lorsqu'il existe une réelle différence. On choisit en général une puissance de 80 %, ce qui veut dire que s'il y a une réelle différence et qu'une étude était réalisée 100 fois, on obtiendrait 80 fois un résultat statistiquement significatif et 20 fois un résultat qui ne l'est pas (c'est-à-dire un faux négatif). Le seuil de signification (α) est fixé à une valeur faible (généralement 0,05). Il correspond à la probabilité d'aboutir à un faux positif.

4.1.4.1. Exemple

Si l'on envisage d'étudier l'effet d'une intervention nutritionnelle sur la composition corporelle d'adultes vivant avec le VIH, il faut connaître l'écart type de l'ECT dans cette population et la valeur de la différence (δ) qui serait significative sur le plan clinique. Dans une étude récente menée en Afrique, l'écart type (σ) de l'ECT entre participants chez 150 adultes séropositifs au VIH s'élevait à 5 kg (communication personnelle). Le poids corporel moyen des participants était d'environ 60 kg. Une augmentation de la masse maigre équivalente à 5 % du poids corporel pourrait être considérée comme significative sur le plan clinique. 3 kg de masse maigre sont équivalents à 2,2 kg d'ECT ($3 \times 0,732$). Par conséquent, si l'on suppose que $\sigma = 5$ kg et que $\delta = 2,2$ kg d'ECT, avec une puissance de 80 %, un seuil de signification de 0,05 et une répartition

des participants à l'étude en deux groupes (témoin et intervention), la taille d'échantillon requise (n) peut être calculée en appliquant la formule suivante :

$$n = 2 \times 7,85 \times \left(\frac{\sigma}{\delta} \right)^2$$

où 7,85 est le facteur de multiplication $f(\alpha, \text{puissance})$ avec puissance = 80 % et $\alpha = 0,05$ obtenu à partir de tables statistiques. Par conséquent :

$$n = 2 \times 7,85 \times \left(\frac{5}{2,2} \right)^2 = 81$$

Il faut au moins 81 participants dans chaque groupe pour aboutir à des résultats statistiquement significatifs. Si l'on cherche une puissance ou un degré de signification plus élevés, il faut prévoir plus de participants à l'étude. Il est également judicieux d'appliquer un coefficient à ce nombre pour tenir compte des abandons en fonction de l'expérience locale. Si l'on suppose que le taux d'abandon s'élève à 25 %, il faut recruter 110 participants dans chaque groupe.

4.2. PRÉPARATION ET STOCKAGE DES DOSES D'EAU DEUTÉRÉE

La dose habituelle d'eau deutérée administrée pour évaluer l'ECT s'élève à 0,05 g de D₂O par kilogramme de poids corporel lorsque les échantillons sont analysés par SMI. Une telle dose se traduit par un enrichissement de l'eau corporelle d'environ 100 ppm de ²H excédentaires (teneur excédentaire de 0,01 %). Lorsque les participants à l'étude sont nombreux, il est plus facile de leur administrer la même dose à tous. Une seule dose type peut être préparée en fonction du poids moyen des individus ou plusieurs doses types pour les études portant sur des personnes d'âge et de poids corporel différents. Les poids de dose recommandés figurent dans le tableau 4. Les doses doivent être préparées dans un endroit propre, par exemple des cuisines. Il n'est pas de bonne pratique

TABEAU 4. DOSES RECOMMANDÉES POUR DES PARTICIPANTS DE DIFFÉRENTS POIDS CORPORELS

Catégorie	Poids corporel (en kg)	Dose de D ₂ O (en g)
Adulte	> 70	6
Adolescent	35-70	3
Enfant	10-35	1
Nourrisson	< 10	0,3

de préparer des doses destinées à être consommées par des êtres humains dans un laboratoire de chimie, car la balance peut avoir auparavant servi à peser des composés toxiques.

Il est préférable de préparer les doses par lots à partir d'un seul flacon d'eau deutérée étant donné qu'il est nécessaire d'analyser une dose diluée en même temps que les échantillons d'urine. Il faut préparer et mélanger une dilution au dixième de D₂O hautement enrichi dans un grand flacon en verre. Ce liquide doit alors être réparti dans des flacons étanches qui contiendront la quantité requise d'eau deutérée en fonction du poids du participant (cf. tableau 4). Les doses doivent être pesées avec précision par du personnel de laboratoire qualifié.

4.2.1. Matériel

Tout le matériel qui est utilisé pour préparer les doses doit être parfaitement sec afin d'éviter toute contamination par de l'eau.

Il faut disposer d'un grand flacon en verre (par ex. un flacon en verre borosilicaté de cinq litres muni d'un bouchon à vis PTFE) pour diluer au dixième l'eau deutérée hautement enrichie. La balance utilisée pour peser la solution mère doit être capable de peser des poids jusqu'à 10 kg avec une précision de 0,1 g. Il faut connaître la masse de la dose jusqu'à quatre chiffres significatifs à chaque étape, par exemple 300,1 g, 55,05 g ou 6,116 g.

Les flacons qui contiennent les doses doivent être munis d'un bouchon à vis et être étanches (il peut s'agir, par ex., de flacons grande ouverture étanches, en polypropylène, stérilisables à l'autoclave et de 120 mL) afin d'éviter les pertes durant le stockage et une contamination par la vapeur d'eau présente dans l'air. Il n'est pas nécessaire de les autoclaver et ils ne se fendent ni ne fuient s'ils sont stockés dans un congélateur.

L'étendue de pesée de la balance qui sert à peser les doses doit être adaptée à la quantité à peser *et* au récipient utilisé. Il est recommandé de pouvoir peser des objets à 0,01 g près.

On trouvera une liste du matériel nécessaire dans l'appendice III.

4.2.2. Mode opératoire

4.2.2.1. Préparation de la solution mère

On prépare une dilution au dixième du D₂O dans un grand flacon en verre en utilisant de l'eau du robinet. Il faut disposer d'un flacon propre, en verre, d'une contenance de cinq litres et muni d'un bouchon à vis. On peut se servir

par exemple d'un flacon neuf, en verre borosilicaté et muni d'un bouchon à vis PTFE. Ne pas utiliser un flacon qui a déjà contenu un réactif chimique. Il faut disposer d'une balance capable de peser un objet de 10 kg à 0,1 g près.

Si l'objectif est de préparer 50 doses adultes contenant chacune 6 g de D_2O , il convient de diluer 300 g de D_2O dans 2,4 L d'eau du robinet. Notons que la densité de l'eau deutérée (2H_2O) s'élève à 1,105 g/mL à 25 °C. 300 g de 2H_2O représentent un volume de 271,5 mL. La densité de l'eau (H_2O) à 25 °C est égale à 1,000 g/mL, 2,4 L pèsent donc 2,4 kg.

Il convient de noter les éléments suivants dans un cahier de laboratoire : numéro de lot de la solution mère d'eau deutérée utilisée pour préparer une dose, date à laquelle cette préparation a été effectuée, numéro de dose, poids du flacon et poids de l'ensemble flacon plus eau à chaque étape. Ces informations peuvent être ultérieurement reportées sur un tableur et la quantité exacte de D_2O contenue dans chaque flacon calculée.

Le bouchon doit être laissé sur le flacon durant la pesée afin d'éviter les pertes par évaporation.

Si l'on utilise une balance électronique :

- Tarer ou peser l'ensemble flacon plus bouchon.
- Verser 300 g (environ 270 mL) de D_2O dans le flacon et refermer le bouchon.
- Noter le poids de l'eau deutérée contenue dans le flacon (A, à peu près 300 g).
- Ajouter 2,4 L d'eau du robinet et refermer le bouchon. Noter le poids de l'ensemble eau deutérée plus eau du robinet (B, environ 2,7 kg).

Il convient de conserver une partie de l'eau du robinet (500 mL) pour préparer une dose diluée qui sera analysée en même temps que les échantillons d'urine (voir la section 4.2.4).

Ce mode opératoire est récapitulé dans la figure 5.

4.2.2.2. Préparation des doses individuelles

Si l'on utilise une balance électronique :

- Tarer le flacon avec son bouchon (à 0,01 g près).
- Verser 55 mL (ou le volume requis, cf. tableau 5) de la solution mère de D_2O dans le flacon à l'aide d'une éprouvette graduée et refermer le bouchon.
- Noter le poids exact (C) (à 0,01 g près).

- Le poids de D_2O ne sera pas exactement de 55 g, car la densité de ce composé est plus élevée que celle de l'eau (la densité du D_2O à 25 °C s'élève à 1,105 g/mL et celle du H_2O est égale à 1,000 g/mL). Cela n'a pas d'importance dès lors que le poids exact est consigné et utilisé dans les calculs ultérieurs.

TABLEAU 5. DOSES RECOMMANDÉES (DILUTION AU DIXIÈME) POUR DES PARTICIPANTS DE DIFFÉRENTS POIDS CORPOREL

Catégorie	Poids corporel (en kg)	Dose de D_2O (en g)	Volume de dilution au dixième requis (en mL)
Adulte	> 70	6	55
Adolescent	35-70	3	27
Enfant	10-35	1	9
Nourrisson	< 10	0,3	2,7

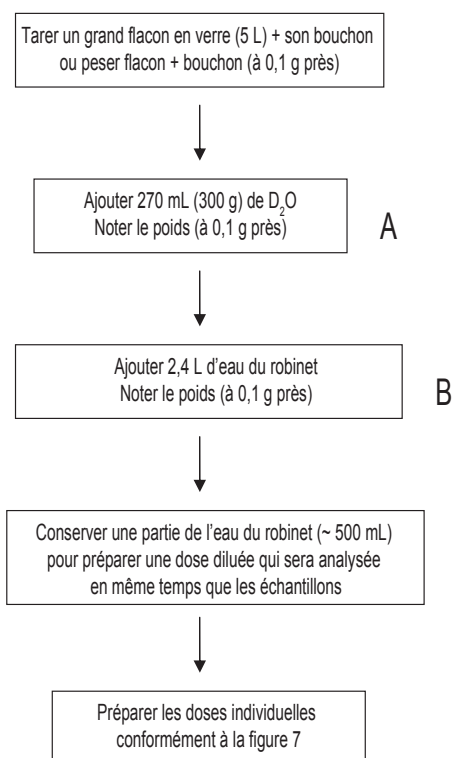


FIG. 5. Réalisation d'une dilution d'eau deutérée au dixième.

- La quantité de D₂O dans chaque dose peut être obtenue par un calcul de proportionnalité :

$$\text{Poids de D}_2\text{O dans la dose (D)} = C \times A \div B \text{ (en g)}$$

Le mode opératoire pour la préparation des doses individuelles est illustré par les figures 6 et 7.

Exemple de calcul (dose adulte) :

Poids de D ₂ O	= 300,1 g (A)
Poids de D ₂ O plus eau potable	= 2 701,4 g (B)
Poids du D ₂ O dilué dans le flacon	= 55,05 g (C)
Poids du D ₂ O dans le flacon (D)	= $C \times A \div B$
	= $55,05 \times 300,1 \div 2\,701,4$ g
	= 6,116 g



FIG. 6. Préparation d'une dose – elle doit être effectuée dans des cuisines et non dans un laboratoire.

Il convient de conserver quelques millilitres (5 mL) de dose (dilution au dixième de la solution mère de D_2O) dans un petit récipient étanche à l'air afin de préparer une dose diluée qui sera analysée en même temps que les échantillons d'urines (voir la section 4.2.4).

4.2.3. Stockage et transport des doses

Les doses peuvent être préparées en une seule fois et conservées au réfrigérateur jusqu'à ce que l'on en ait besoin.

Pour des questions d'hygiène et éviter les contaminations croisées, les doses ne devraient pas être stockées au même endroit que les échantillons d'urines. L'enrichissement des échantillons en deutérium s'élève à environ 100 ppm de 2H excédentaires (teneur excédentaire de 0,01 %) alors que dans les doses, l'enrichissement est à peu près égal à 100 000 ppm de 2H excédentaires (teneur excédentaire de 10 %). La dose contient donc 1 000 fois plus de deutérium que les échantillons biologiques. Par ailleurs, les doses ne doivent pas être conservées avec les échantillons d'eau corporelle afin d'éviter les contaminations microbiennes croisées.

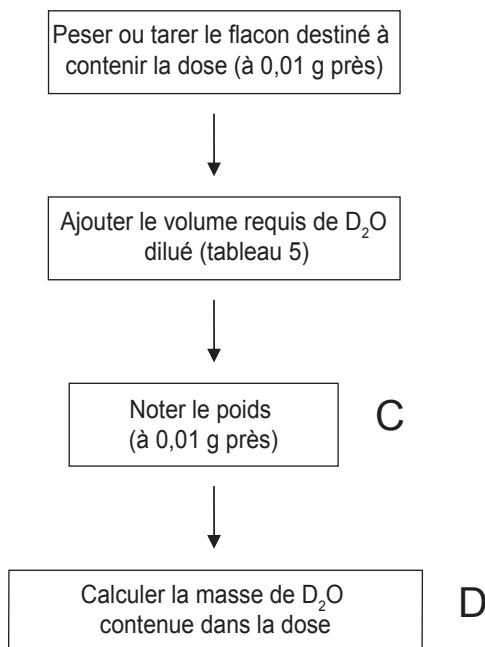


FIG. 7. Préparation d'une dose individuelle.

Lorsque l'on transporte des doses depuis ou vers le terrain, il convient d'utiliser des cartons distincts pour les doses et les échantillons.

4.2.4. Préparation de la dose diluée pour l'analyse

Il est important de mesurer l'enrichissement en ^2H de l'eau de la dose ainsi que des échantillons d'eau corporelle. Il convient de conserver une petite quantité (4 à 5 mL) de liquide pour chaque lot de dose afin de l'analyser en même temps que les échantillons d'eau corporelle. Il faut diluer ce liquide (au 1/500 ou au 1/1000) de sorte que son enrichissement soit similaire à celui que l'on prévoit pour les échantillons d'eau corporelle prélevés après administration de la dose. Notons que si des doses individuelles sont préparées pour chaque participant à l'étude, il convient de conserver un aliquot (1 ou 2 mL) de chaque dose. Si les doses sont préparées par lots, il n'est nécessaire d'analyser qu'un aliquot par lot. Il faut connaître l'enrichissement de la dose en deutérium ainsi que le poids de la dose pour pouvoir calculer l'ECT (voir la section 6).

La dose diluée est préparée en mélangeant 0,1 g de la dose (pesée précise à quatre chiffres significatifs près) et 100 g d'eau du robinet (pesée précise à quatre chiffres significatifs près). Afin d'éviter les pertes par évaporation lors de la pesée de petits volumes (100 μL), il est recommandé d'appliquer le mode opératoire suivant :

- 1) Tarer ou peser une fiole jaugée de 100 mL munie de son bouchon sur une balance de précision capable d'effectuer une pesée à quatre chiffres significatifs près (0,0001 g).
- 2) Ajouter environ 50 mL d'eau du robinet. Remettre le bouchon et noter le poids.
- 3) Verser 100 μL de l'eau de dose à l'aide d'une micropipette. Remettre le bouchon et noter le poids.
- 4) Compléter la fiole jusqu'au trait de jauge avec de l'eau du robinet, remettre le bouchon et peser à nouveau la fiole.
- 5) Poids de la dose ajoutée = « a » g (c'est-à-dire le poids mesuré à l'étape 3 moins le poids mesuré à l'étape 2).
- 6) Poids total d'eau ajouté = « E » g (c'est-à-dire le poids mesuré à l'étape 4 moins le poids de la dose « a » (calculé ci-dessus) moins le poids de la fiole et de son bouchon si le zéro de la balance n'a pas été réglé à l'issue de l'étape 1).

Exemple de calcul (en supposant que le zéro de la balance n'a pas été réglé à l'issue de l'étape 1) :

Poids de l'eau du robinet versée dans la fiole vide	= 49,7326 g
Poids de eau du robinet plus 100 µL de l'eau de dose	= 49,8339 g
Poids de dose ajouté (a)	= 49,8339 – 49,7326 g = <u>0,1013 g</u>
Poids total de eau du robinet plus dose à l'étape 4	= 99,5187 g
Poids de l'eau du robinet (E)	= 99,5187 – 0,1013 g = <u>99,4174 g</u>

Cette dilution aboutit à un enrichissement similaire à celui qui est attendu pour l'eau corporelle (teneur excédentaire en ^2H de 0,01 % soit 100 ppm de ^2H excédentaires).

Des aliquots (4 à 5 mL) de la dose diluée et de l'eau du robinet utilisée pour réaliser cette dilution peuvent être conservés dans des cryotubes munis de bouchons à vis au congélateur à (-20 °C) avec les échantillons d'urine jusqu'à ce qu'ils soient analysés.

4.3. MESURE DE L'ECT

La figure 8 récapitule les différentes étapes d'une mesure de l'ECT par dilution de deutérium.

Les participants doivent consommer une quantité normale de liquides et d'aliments la veille de l'estimation de l'ECT et éviter les efforts intenses après le dernier repas de ce jour-là afin d'éviter une déshydratation et l'épuisement des réserves de glycogène.

Pour que la mesure de l'ECT soit précise, il faut demander aux participants de vider leur vessie avant le début de l'examen. Cela permet de s'assurer que le poids corporel est mesuré à chaque fois dans les mêmes conditions dans les études longitudinales et que l'eau contenue dans les urines n'est pas incluse dans l'ECT.

4.3.1. Mesures anthropométriques

Il faut mesurer le poids corporel de manière précise, car la masse grasse est estimée par différence entre ce poids et la masse maigre. Il convient de demander aux participants de vider leur vessie (et si possible leurs intestins) avant de les peser. Ils doivent être pesés en vêtements légers. Il est particulièrement important d'uniformiser les conditions de mesure de cette manière pour les études longitudinales. L'exactitude de la balance utilisée pour mesurer le poids corporel doit être vérifiée quotidiennement à l'aide d'un poids étalon dont la masse est

connue. De nombreuses précautions sont prises afin de s'assurer de l'exactitude et de la précision des données isotopiques. Si l'on ne fait pas preuve de la même vigilance pour les mesures anthropométriques, les valeurs obtenues pour la composition corporelle risquent d'être faussées.

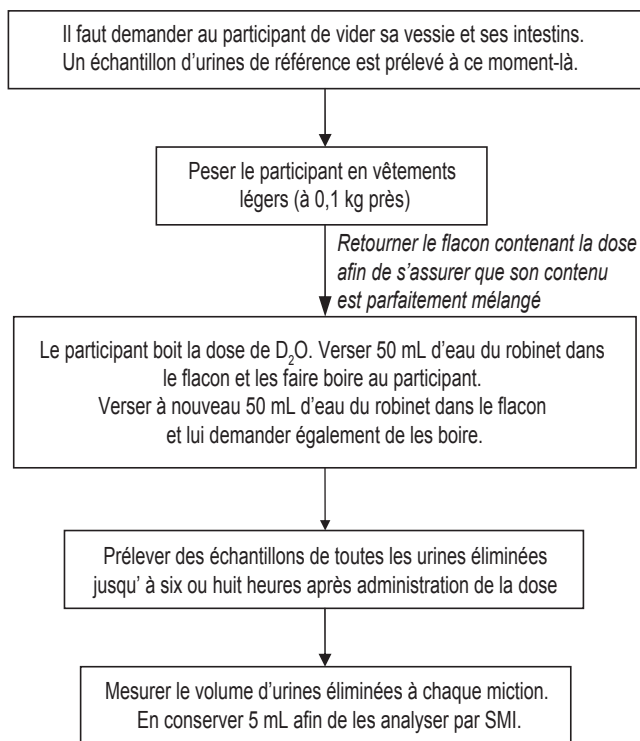


FIG. 8. Logigramme décrivant les différentes étapes associées à la mesure de l'ECT par dilution de deutérium.

4.3.1.1. Mesure du poids et de la taille chez l'adulte et l'enfant

Mesure du poids

- Le poids des participants doit être mesuré à 0,1 kg près à l'aide d'une balance électronique ou de toute balance dont la précision est suffisante.
- La balance doit être posée sur une surface plane dont la planéité doit être contrôlée, si possible, à l'aide d'un niveau à bulle.
- Les participants doivent porter des vêtements légers et retirer leurs chaussures (fig. 9). S'ils ne souhaitent pas porter des vêtements légers

durant la pesée, leur tenue peut être ensuite pesée séparément et son poids déduit afin d'obtenir une mesure précise du poids corporel.



FIG. 9. Mesure du poids – le poids est mesuré en vêtements légers et sans chaussures.

- Il convient de noter le poids mesuré à 0,1 kg près sur la fiche de données du participant.
- Pour les études longitudinales dans lesquelles on cherche à mesurer les évolutions de la composition corporelle sur une durée relativement courte, il est essentiel que le poids corporel soit mesuré avec précision. Il faut tenir compte du poids de tous les vêtements portés pendant la mesure.
- L'exactitude de la balance doit être vérifiée quotidiennement à l'aide d'un poids étalon dont la masse est connue.

Mesure de la taille

- La taille doit être mesurée à 0,1 cm près à l'aide d'une toise.
- La toise doit être posée sur une surface plane dont la planéité doit être contrôlée, si possible, à l'aide d'un niveau à bulle. L'exactitude de la toise doit être vérifiée périodiquement en utilisant des piges.
- La taille est mesurée sans chaussures.
- Le participant doit se tenir droit, les talons contre le mur ou contre la tige de la toise. Ses genoux doivent être droits.
- Demander au participant de regarder droit devant lui. Il convient de s'assurer que ses yeux sont au même niveau que ses oreilles (fig. 10).

- Abaisser le curseur jusqu'à ce qu'il touche le sommet du crâne. Les coiffures élaborées doivent être défaites. Sur la fiche de données du participant, noter la taille en centimètres (à 0,1 cm près). Cette mesure doit être effectuée deux fois. Les deux mesures doivent être consignées et leur moyenne calculée.



FIG. 10. Mesure de la taille – cheveux retombés, regard tourné vers l'avant.

Chez l'enfant, la taille est mesurée par cette méthode uniquement s'il fait plus de 85 cm (voir section suivante). L'Organisation mondiale de la Santé a élaboré un mode opératoire détaillé pour mesurer le poids et la taille d'un enfant. Les documents correspondants peuvent être téléchargés à l'adresse suivante : <http://www.who.int/childgrowth/training/fr/index.html>.

4.3.1.2. Mesure du poids et de la taille d'un nourrisson

Mesure du poids d'un nourrisson

- Les nourrissons doivent être pesés nus à l'aide d'une balance précise à 0,01 kg près (fig. 11).
- Laisser un morceau de tissu dans la nacelle afin que l'enfant ne prenne pas froid.
- Régler le zéro de la balance après avoir posé le morceau de tissu dans la nacelle.
- Poser doucement l'enfant nu sur le tissu dans la nacelle.
- Il faut attendre que l'enfant se calme et que le poids se stabilise.
- Mesurer et noter immédiatement le poids (à 10 g près, soit 0,01 kg près).

Il convient d'étalonner la balance chaque semaine ou dès qu'elle est déplacée.



FIG. 11. Pesée d'un nourrisson.

Contrôle de la balance

Peser des poids connus de 3, 5 et 10 kg et, s'il y a lieu, de 20 kg. Si l'on ne dispose pas de poids étalons, on peut se servir de bouteilles d'eau non ouvertes. Elles doivent avoir été pesées avec précision sur une balance étalonnée et leur poids doit être vérifié périodiquement.

Pour vérifier une pesée avec tarage : peser un poids de 20 kg, régler la balance à zéro puis ajouter un poids de 3 kg. La balance doit indiquer un poids de 3 kg. Si la masse des poids n'est pas précise, la balance doit si possible être étalonnée. Sinon, elle doit être remplacée.

Mesure de la taille d'un nourrisson

On mesure la taille d'un nourrisson à l'aide d'une toise pour bébé (parfois appelée « infantomètre »). Il faut deux personnes pour mesurer la taille d'un enfant (fig. 12).

L'une des personnes doit :

- Aider à mettre l'enfant sur le dos sur la toise pour bébé en soutenant sa tête et en la plaçant contre l'extrémité de l'objet prévu à cet effet.
- Placer le sommet de sa tête contre l'extrémité de la toise prévue à cet effet en comprimant ses cheveux. Vérifier que l'enfant est allongé sur l'axe

central de l'objet et ne change pas de position. Ses épaules doivent être en contact avec la surface horizontale et son dos ne doit pas être courbé.

En général, cette personne se tient debout ou agenouillée derrière l'extrémité de la toise qui soutient la tête de l'enfant.



FIG. 12. Mesure de la taille d'un nourrisson.

La deuxième personne doit :

- Soutenir le tronc de l'enfant pendant que celui-ci repose sur la toise.
- Étendre l'enfant tout droit sur la surface horizontale.
- Mettre une main sur les tibias au-dessus des chevilles ou sur les genoux et appuyer fermement vers le bas. Avec l'autre main, la personne doit maintenir fermement les talons contre l'extrémité de la toise qui touche les pieds. Elle doit s'assurer que les doigts de pied n'empêchent pas que cette extrémité soit en contact avec les talons.
- Mesurer et noter immédiatement la taille (à 0,1 cm près).

La toise pour bébé doit toujours rester propre et doit être stockée à une température d'intérieur normale à l'abri de l'humidité. Sa précision doit être vérifiée chaque semaine.

4.3.2. Administration d'une dose

Chez l'adulte et l'enfant, la dose doit être ingérée au moins deux heures après le dernier repas et le participant doit, de préférence, être à jeun de la veille. De plus, aucun aliment ne doit être consommé tant que le dernier prélèvement n'a pas été effectué. S'il n'est pas possible d'attendre le dernier prélèvement, le participant peut prendre un repas léger une heure après avoir absorbé la dose. Ce repas doit être simple et d'une valeur énergétique inférieure à 1 250 kJ (300 kcal). La dose peut ainsi avoir quitté l'estomac avant le repas, mais l'eau contenue dans celui-ci commencera à s'équilibrer avec l'eau corporelle avant que les prélèvements d'urines postérieurs à l'administration de la dose ne soient effectués. Chez le nourrisson, la dose est généralement consommée au cours d'un repas. S'il est nourri au sein, on peut se servir d'une seringue jetable pour administrer la dose juste avant la tétée. Si tel est le cas, il convient de déterminer avec précision la dose injectée en pesant la seringue pleine et en la pesant à nouveau une fois que la dose a été administrée. Si le bébé est nourri au biberon, l'eau deutérée peut être mélangée au lait. Si la dose n'est pas complètement consommée, le nourrisson ne peut être intégré à l'étude. Il est recommandé de demander conseil à une personne qui a déjà mesuré l'ECT chez des bébés :

- Il faut prélever des échantillons d'urines de référence avant que la dose ne soit ingérée.
- Si la dose a été congelée, elle doit être complètement dégelée avant d'être utilisée.
- Qu'il ait été conservé au réfrigérateur ou décongelé après avoir été congelé, le flacon doit être retourné plusieurs fois afin de mélanger l'éventuelle buée qui s'est déposée sur le bouchon avec le reste du liquide. Il convient d'effectuer cette opération juste avant que la dose ne soit consommée. En effet, l'eau de condensation a subi un fractionnement par rapport au reste du liquide (pour plus d'informations sur le fractionnement, consulter l'appendice IV).
- Le flacon ne doit pas être ouvert avant le moment où la dose doit être consommée.

Lorsque l'on parle aux participants, il est souvent préférable d'employer les expressions « eau lourde » ou « eau spéciale » plutôt qu'« eau marquée au deutérium » ou « eau marquée à un isotope stable » car il peut y avoir une confusion sur le mot « isotope », qui est souvent associé à la radioactivité.

L'utilisation de l'eau deutérée ne présente aucun risque radiologique.

- 1) Noter le numéro du flacon et le moment où la dose a été ingérée sur la fiche de données du participant.
- 2) Les participants doivent boire leur dose avec une paille afin d'éviter d'en renverser (fig. 13).
- 3) Verser environ 50 mL d'eau du robinet dans le flacon et demander au participant de la boire avec la même paille. Effectuer une deuxième fois cette opération avec à nouveau 50 mL d'eau du robinet. Cela permet de s'assurer qu'il ne reste pas d'eau marquée dans le flacon.



FIG. 13. Administration d'une dose. le participant doit boire la dose avec une paille afin d'éviter d'en renverser.

4.3.3. Nourriture, boissons et activité physique durant la période d'équilibration

Il n'est pas nécessaire que les participants restent à jeun pendant la période d'équilibration : un repas léger peut être pris une heure après que la dose a été administrée. Il convient de noter le volume de toutes les boissons consommées durant la période d'équilibration, y compris les 100 mL utilisés pour rincer le flacon. Ce volume doit être déduit de l'ECT calculée. Si aucun autre liquide n'est ingéré durant la période d'équilibration, les 100 mL d'eau ne sont en général pas pris en compte.

Les participants doivent éviter toute activité physique durant la période d'équilibration afin de réduire au minimum les pertes en eau par la respiration et par évaporation transdermique (pertes insensibles en eau). Il y a moins

de deutérium dans la vapeur d'eau que dans l'eau corporelle à cause du fractionnement isotopique. Une augmentation des pertes insensibles en eau conduit donc à un calcul erroné de l'ECT.

4.3.4. Prélèvement d'un échantillon d'urines

Avant de commencer, il convient de s'assurer que l'on dispose du matériel suivant. Tout le matériel doit être propre et sec avant d'être utilisé.

Collecteur d'urines :

- Chez les participants de sexe masculin, les urines peuvent être recueillies dans une éprouvette graduée d'un litre sèche et en polyéthylène. Il faut noter le volume recueilli et en conserver un aliquot (4 à 5 mL) à des fins d'analyse. Le reste des urines peut être jeté.
- Sinon, on peut se servir d'un bocal en polyéthylène sec ou d'un collecteur en plastique sec adapté à la cuvette des toilettes. Les urines sont ensuite transférées dans une éprouvette graduée et le volume noté, comme ci-dessus.
- Pour prélever des échantillons d'urines chez un nourrisson, on peut mettre des tampons d'ouate dans sa couche.

Tubes utilisés pour conserver les échantillons :

- Ils doivent être munis d'un bouchon à vis et d'un joint afin d'éviter les pertes, le fractionnement et la contamination croisée pendant le stockage (on peut par exemple utiliser des cryotubes de 4 mL). Il est conseillé de se servir de bouchons de couleurs différentes pour les échantillons de référence et pour les échantillons prélevés après administration de la dose, par exemple des bouchons bleus pour les premiers et rouges pour les seconds.
- Ils doivent être parfaitement secs avant d'être utilisés.
- Ils ne doivent pas être réutilisés afin d'éviter toute contamination croisée entre des échantillons enrichis (prélevés après administration d'une dose) et des échantillons non enrichis (de référence).
- Il faut coller sur les tubes une étiquette où figurent l'identifiant du participant et la date et l'heure auxquelles le prélèvement a été effectué, mais pas le nom du participant afin de préserver son anonymat.

Gants :

- Il faut porter des gants neufs jetables lorsque l'on manipule des échantillons d'urines.

Sachets zip :

- Il faut deux sachets zip par participant :
 - un pour l'échantillon de référence
 - un pour les échantillons prélevés après administration de la dose.
- Il faut un troisième sachet zip pour conserver ensemble tous les échantillons prélevés sur un même participant.
- Tous les sachets doivent porter en permanence une étiquette sur laquelle figure l'identifiant du participant.

Étiquettes :

- Vérifier que les étiquettes sont de bonne qualité et qu'elles ne peuvent se détacher.
- Utiliser un marqueur indélébile pour écrire sur les étiquettes afin d'éviter les bavures et l'effacement des inscriptions, en particulier au moment où les échantillons sont dégelés.

Fiches de données des participants :

- Il faut disposer d'un exemplaire de la fiche de données pour chaque participant avant le premier prélèvement (échantillon de référence).
- Afin de préserver l'anonymat des participants, ne pas écrire leur nom sur les fiches de données. Les noms et les identifiants correspondants doivent être notés séparément.
- On trouvera un exemple de fiche de données d'un participant dans l'appendice II.

4.3.4.1. Heures de prélèvement

Il faut prélever un échantillon d'urines de références avant que la dose ne soit consommée.

Il faut prélever et conserver un échantillon de toutes les urines éliminées jusqu'à six ou huit heures après administration de la dose. L'eau se renouvelle plus rapidement chez les enfants que chez les adultes, il est donc sans doute

suffisant, chez les premiers, de recueillir des échantillons d'urines jusqu'à cinq ou six heures après ingestion de la dose. La durée nécessaire à l'équilibration sera plus élevée chez les participants âgés ou dont le volume d'eau extracellulaire est important, comme les enfants dénutris. Pour ces personnes, il faut prévoir une période de prélèvements plus longue (jusqu'à huit heures). Il est recommandé de recueillir trois échantillons d'urine après administration de la dose afin de s'assurer que l'équilibration entre l'eau deutérée et l'eau corporelle est achevée et qu'un plateau a été atteint pour l'enrichissement de cette eau (voir les figures 2 à 4). Il est possible de déterminer la durée d'équilibration optimale en réalisant une étude pilote avec des participants dont l'âge et l'état de santé sont les mêmes que ceux des personnes qui participent à l'étude principale. Dans les études qui portent sur des individus âgés, la dose peut être administrée le soir une à deux heures avant le coucher, les échantillons d'urine étant prélevés le lendemain matin avant le petit-déjeuner de sorte que la durée d'équilibration soit de dix heures. Les participants doivent uriner entre le moment où la dose est administrée et le coucher afin d'améliorer l'équilibration. Les urines éliminées pendant la nuit peuvent être ignorées afin de réduire au minimum les contraintes pour les participants.

4.3.4.2. Mode opératoire des prélèvements d'échantillons

Le volume des urines éliminées à chaque miction doit être noté et un aliquot (4 à 5 mL) conservé à des fins d'analyse. Le reste des urines peut être jeté. Il est recommandé de préparer deux aliquots. L'un peut être envoyé pour être analysé et l'autre conservé au cas où le premier ne parviendrait pas au laboratoire d'analyse.

Les participants de sexe masculin peuvent uriner directement dans une éprouvette graduée d'un litre, sèche et en polyéthylène. Sinon, on peut utiliser un bocal en polyéthylène sec ou un collecteur en plastique sec adapté à la cuvette des toilettes. Les urines sont ensuite transférées dans une éprouvette graduée et le volume noté.

Pour prélever des échantillons d'urines chez un nourrisson, on peut mettre des boules d'ouate préalablement conservées dans un récipient sec et peu humide à l'intérieur d'une couche. La boule d'ouate est ensuite introduite dans le corps d'une seringue jetable neuve de 20 mL et les urines sont récupérées dans un tube en les extrayant à l'aide du piston. Chez les nourrissons, il est difficile d'évaluer le volume des urines recueillies.

Sur chaque tube, noter l'identifiant du participant et la date et l'heure où le prélèvement a été effectué. Mentionner toutes les dates et heures de prélèvements d'urines sur la fiche de données du participant. Ces renseignements doivent être reportés sur un tableur dès que possible.

Il convient de ne réutiliser ni les tubes utilisés pour stocker des échantillons ni les seringues.

4.3.4.3. Conservation et transport des échantillons d'urines

Étant donné qu'une étude importante donne lieu à des centaines de prélèvements, il est essentiel de gérer et d'étiqueter les échantillons d'urines avec soin. Il convient d'appliquer le mode opératoire suivant :

- Fermer soigneusement les récipients afin d'empêcher les pertes en eau par évaporation et la contamination croisée entre échantillons.
- Ne pas remplir les récipients à plus de 90 % de leur contenance pour tenir compte d'une augmentation de volume au cas où les échantillons seraient congelés avant d'être analysés.
- On peut se servir de sachets zip pour conserver ensemble tous les échantillons d'une seule personne et empêcher les contaminations croisées entre participants. Utiliser un sachet zip pour l'échantillon de référence et un autre sachet pour les échantillons prélevés après administration de la dose. Mettre ensuite ces deux sachets dans un sac plus grand de sorte que tous les échantillons prélevés sur un participant soient conservés ensemble.
- Inscrire l'identifiant du participant sur les tubes qui contiennent les échantillons et sur les sachets zip.
- Noter les prélèvements effectués dans un tableur.

Les échantillons d'urine doivent être conservés gelés (à -20°C) jusqu'à ce qu'ils soient analysés. Si ce n'est pas possible, il faut les entreposer dans un réfrigérateur à 4°C ou dans une glacière jusqu'à ce que l'on puisse les mettre dans un congélateur.

Afin d'empêcher toute contamination des échantillons :

- Ne jamais conserver les échantillons et les doses au même endroit.
- Fermer hermétiquement le bouchon des tubes qui contiennent les échantillons afin d'éviter les pertes par évaporation et la contamination par la vapeur d'eau contenue dans l'atmosphère.

4.3.4.4. Transport des échantillons vers le laboratoire d'analyse

Il n'est pas nécessaire de maintenir les échantillons d'urines congelés durant leur transport vers le centre d'analyse. Ils doivent être emballés conformément à

l'instruction d'emballage 650 de l'IATA applicable aux matières biologiques de catégorie B (numéro ONU 3373).

En résumé, les échantillons doivent se trouver dans des récipients primaires (par ex. des cryotubes et des sachets zip) qui sont emballés dans un récipient secondaire, lui-même contenu dans un emballage extérieur rigide. Les récipients primaires doivent être étanches et emballés dans un récipient secondaire de façon à éviter que, dans des conditions normales de transport, ils ne se brisent, soient perforés ou laissent échapper leur contenu dans l'emballage secondaire. Ce dernier doit lui aussi être étanche. Un matériau absorbant doit être placé entre le récipient primaire et l'emballage secondaire. La quantité de matériau absorbant, telle que l'ouate, doit être suffisante pour absorber la totalité du contenu du récipient primaire. Le récipient primaire ou l'emballage secondaire doit être capable de résister sans fuite à une pression intérieure de 95 kPa à des températures de -40°C à 55°C. L'emballage extérieur doit avoir une contenance maximale de quatre litres. Il doit porter l'étiquette suivante : « Matière biologique de catégorie B (numéro ONU 3373) emballée conformément à l'instruction 650 de l'IATA ».

5. ANALYSE DE L'ENRICHISSEMENT EN DEUTÉRIUM

L'enrichissement en deutérium est mesuré à l'aide d'un spectromètre de masse isotopique. Il s'agit d'un appareil coûteux et qui requiert une grande compétence pour son fonctionnement et son entretien, c'est pourquoi les échantillons sont généralement envoyés à un site central.

Le spectromètre de masse sépare les ions sous vide poussé en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z). Les principaux éléments de cet appareil sont le système d'injection, le système de pompage, la source d'ionisation, l'analyseur et le détecteur. Aujourd'hui, les spectromètres de masse sont pilotés par ordinateur et disposent d'un logiciel complexe de traitement des données. La figure 14 présente un exemple caractéristique de spectromètre de masse adapté à l'analyse du deutérium dans des échantillons d'urines.

La teneur des isotopes stables du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et de l'azote est mesurée dans des gaz simples (CO_2 , H_2 , N_2) par SMI en utilisant des détecteurs individuels pour chaque isotope. Le spectromètre de masse se trouve sur la table à gauche de l'opérateur sur la figure 14. L'opérateur charge des échantillons (contenus dans des tubes Exetainer) dans le passeur automatique d'échantillons.

Dans un spectromètre de masse isotopique, le gaz simple est ionisé par l'impact d'électrons émis par un filament chaud qui se trouve sous vide poussé.

Les ions sont séparés dans un champ magnétique. L'intensité de chaque faisceau d'ions est mesurée par la charge produite par l'impact des ions sur un détecteur pour chaque isotope. Les détecteurs sont appelés cylindres de Faraday. Chaque échantillon est comparé à un gaz de référence dont la composition est connue. La SMI permet de mesurer avec précision des enrichissements très faibles, voire équivalents à ceux rencontrés dans l'environnement.

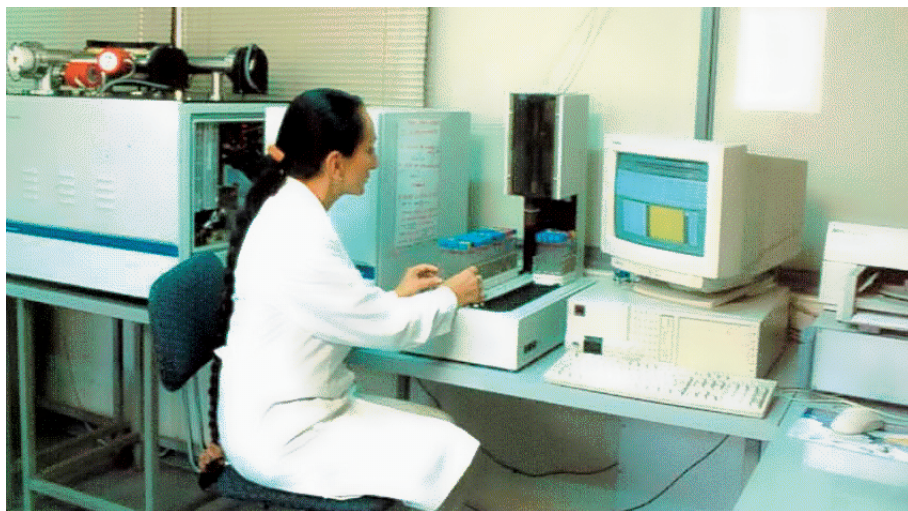


FIG. 14. Spectromètre de masse à flux continu.

Dans le gaz hydrogène, deux espèces sont présentes : l'hydrogène non marqué, $^1\text{H}_2$, dont le rapport m/z est égal à deux et le gaz hydrogène qui contient du deutérium (HD ou $^1\text{H}^2\text{H}$) dont le rapport m/z est égal à trois. La concentration de ^2H mesurée par SMI est souvent exprimée en parties de ^2H par million (ppm) [24].

$$\text{ppm } ^2\text{H} = \frac{([^1\text{H } ^2\text{H}]/2) + [^2\text{H } ^2\text{H}]}{[^1\text{H } ^1\text{H}] + [^1\text{H } ^2\text{H}] + [^2\text{H } ^2\text{H}]} \times 10^6$$

Il s'agit du rapport entre les moles d' $^1\text{H}^2\text{H}$ et les moles d' $^1\text{H}^2\text{H}$ plus les moles d' $^1\text{H}_2$ multiplié par un million. Le terme $[^2\text{H}^2\text{H}]$ est généralement négligeable et peut être ignoré. Notons que ces ppm en mol/mol ne sont pas identiques aux ppm en mg/kg, souvent utilisés pour exprimer une concentration. Ces deux unités ne sont pas équivalentes.

L'enrichissement est la proportion de deutérium présente au-delà de la teneur de référence, c'est-à-dire la teneur en ^2H des échantillons prélevés après

administration de la dose moins la teneur en ^2H de l'échantillon de référence. L'enrichissement est exprimé en ppm de ^2H excédentaires.

Notons que, en SMI, l'unité d'enrichissement est la teneur excédentaire en ^2H , parfois également appelée ppm de ^2H excédentaires. Ces parties par million représentent un rapport molaire (mol/mol) et non un rapport massique (mg/kg). Il importe de ne pas confondre les ppm excédentaires utilisés en SMI et les ppm (mg/kg) indiqués par les spectromètres FTIR. Ces deux types de ppm ne sont pas identiques et ne sont donc pas interchangeables. Cette différence a une incidence sur le calcul du volume de distribution. Lorsque l'on calcule l'ECT à l'aide des résultats d'une SMI, il faut convertir la masse d'eau deutérée consommée en moles. L'ECT sera donc exprimée en moles et doit être convertie en kg. Il est important de s'assurer que les tableaux qui servent à calculer l'ECT contiennent les formules adaptées à la méthode utilisée pour effectuer une mesure de l'enrichissement en deutérium.

6. CALCULS

6.1. RÉSULTATS DES CALCULS DE COMPOSITION CORPORELLE

L'enrichissement de l'eau corporelle en eau deutérée chez un participant peut être utilisé pour calculer :

- L'ECT du participant ;
- Sa masse maigre ;
- Sa masse grasse.

Ces chiffres peuvent servir à évaluer l'état nutritionnel du participant.

6.2. CALCUL DE L'ECT

Les éléments suivants sont nécessaires pour calculer l'ECT (voir également les sections 4.2.2.2 et 4.2.4) :

- a) E = poids total d'eau ajouté (en g) lorsque la dilution de préparation des doses a été réalisée ;
- b) A = poids de la dose absorbée par le participant (en g) ;

- c) a = poids de la dose dans la dose diluée (en g) ;
- d) ΔDD = enrichissement de la dose diluée en 2H (en ppm de 2H excédentaires), c'est-à-dire la teneur de la dose diluée en 2H (en ppm de 2H) moins la teneur en 2H de l'eau du robinet utilisée pour réaliser la dilution (en ppm de 2H) ;
- e) ΔEC = enrichissement de l'eau corporelle en 2H (en ppm de 2H excédentaires), c'est-à-dire la teneur en 2H de l'échantillon d'urines prélevé après administration de la dose (en ppm de 2H) moins la teneur en 2H de l'échantillon d'urines de référence (en ppm de 2H) ;
- f) Pertes cumulées de 2H par les urines (multipliées par deux afin d'obtenir une estimation de l'ensemble des pertes sensibles et insensibles en eau ; s'il existe un coefficient spécifique pour l'étude concernée, il convient de l'utiliser). Elles s'expriment soit en moles (grammes \div 18,0153), soit en kilogrammes pour correspondre à l'unité du N_D .

En outre, il faut disposer du poids corporel du participant pour pouvoir estimer sa composition corporelle à partir de l'ECT calculée.

L'ECT est calculée à partir du volume de distribution du 2H (N_D). Il est important de se souvenir de ce que la SMI donne comme résultat un rapport molaire. Le volume de distribution est donc exprimé en moles d'eau et doit être converti en kilogrammes pour que la composition corporelle puisse être estimée.

$$N_D \text{ (en moles)} = \frac{EA}{18,0153a} \times \frac{\Delta DD}{\Delta EC} - (2 \times \text{volume cumulé d'urines})$$

$$N_D \text{ (en kg)} = \frac{EA}{18,0153a} \times \frac{\Delta DD}{\Delta EC} \times \frac{18,0153}{1\,000} - (2 \times \text{volume cumulé d'urines})$$

Cette dernière formule peut être simplifiée de la manière suivante :

$$N_D \text{ (en kg)} = \frac{EA}{a} \times \frac{\Delta DD}{\Delta EC} \times \frac{1}{1\,000} - (2 \times \text{volume cumulé d'urines})$$

où

E = poids total d'eau ajouté (en g) lorsque la dilution de préparation des doses a été réalisée ;

A = poids de la dose absorbée par le participant (en g) ;

18,0153 = masse molaire de l'eau ;

a = poids de la dose dans la dose diluée (en g) ;

ΔDD = enrichissement de la dose diluée en 2H (en ppm de 2H excédentaires) ;

ΔEC = enrichissement de l'eau corporelle en 2H (en ppm de 2H excédentaires).

Le volume de distribution du ^2H est 4,1 % plus élevé que celui de l'eau corporelle à cause des échanges d'atomes d'hydrogène non aqueux qui ont lieu dans l'organisme (voir la section 3.2.1).

$$\text{ETC (en kg)} = \frac{\text{EA}}{a} \times \frac{\Delta\text{DD}}{\Delta\text{EC}} \times \frac{1}{1\,000 \times 1,041} - (2 \times \text{volume cumulé d'urines})$$

La formule ci-après est identique à celle qui figure ci-dessus, mais est présentée sous une forme adaptée à un tableur :

$$\text{ECT (en kg)} = ((E \times A/a) \times (\Delta\text{DD}/\Delta\text{EC})/(1\,000 \times 1,041)) - (2 \times \text{volume cumulé d'urines})$$

6.3. EXEMPLES DE CALCULS

Le tableau 6 présente des exemples de valeurs et de calculs intermédiaires pour deux adultes dont l'indice de masse corporelle (IMC) est similaire, mais dont la composition corporelle diffère. Il contient également les données obtenues pour un enfant.

6.3.1. Calcul du volume cumulé d'urines

Le volume cumulé d'urines représente simplement le volume total des urines éliminées entre le moment où la dose a été ingérée et le moment (compris) où l'échantillon actuel a été prélevé, comme le montre le tableau 7.

L'eau perdue par le corps par la respiration, la sueur et les selles est prise en compte en multipliant le volume d'urines par deux.

6.3.2. Calcul de l'ECT en utilisant les valeurs qui figurent dans les tableaux 6 et 7

$$\text{ECT (en kg)} = ((E \times A \div a) \times (\Delta\text{DD} \div \Delta\text{EC}) \div (1\,000 \times 1,041)) - (2 \times \text{volume cumulé d'urines})$$

TABLEAU 6. EXEMPLES DE VALEURS

	Adulte 1	Adulte 2	Enfant
Identifiant du participant	A001	A002	Enfant1
Date de l'étude	15 août 2007	15 août 2007	15 août 2007
Date de naissance	9 janv. 1957	5 avril 1945	21 juill. 1994
Âge (en années)	50	62	13
Sexe	Masculin	Féminin	Masculin
Poids corporel (en kg)	80	47,4	50,5
Taille (en cm)	183	141,5	158,7
IMC (en kg/m ²)	23,9	23,7	20,1
Poids de la dose consommée (en g), A	39,9846	27,898	32,039
Heure où la dose a été consommée	7 h 00	10 h 10	12 h 26
Heure du premier prélèvement postérieur à l'administration de la dose	9 h 10	12 h 10	13 h 35
Volume du premier échantillon prélevé après administration de la dose (en mL)	135	50	240
Heure du deuxième prélèvement postérieur à l'administration de la dose	10 h 05	16 h 20	16 h 30
Volume du deuxième échantillon prélevé après administration de la dose (en mL)	60	100	105
Heure du troisième prélèvement postérieur à l'administration de la dose	11 h 15	17 h 30	17 h 30
Volume du troisième échantillon prélevé après administration de la dose (en mL)	70	45	100
Poids de la dose dans la dose diluée (DD) (en g), a	0,1032	0,10130	0,1717
Poids de l'eau dans DD (en g), E	49,7426	99,41736	54,9684
Teneur en ² H de l'eau utilisée pour préparer la DD (en ppm de ² H)	154,3	153,3	150,7
Teneur en ² H de la DD (en ppm de ² H)	345,7	255,4	418,1
Enrichissement de la DD en ² H (en ppm de ² H excédentaires), ΔDD	191,4	102,1	267,4
Teneur en ² H de l'échantillon de référence (en ppm de ² H)	156,6	155	156,3
Teneur en ² H du premier échantillon prélevé après administration de la dose (en ppm de ² H)	213,8	271,2	208,6
Teneur en ² H du deuxième échantillon prélevé après administration de la dose (en ppm de ² H)	240,5	272,6	253,5

TABLEAU 6. EXEMPLES DE VALEURS

	Adulte 1	Adulte 2	Enfant
Teneur en ² H du troisième échantillon prélevé après administration de la dose (en ppm de ² H)	234,1	275,8	252,7
Enrichissement en ² H du premier échantillon d'urines prélevé après administration de la dose (en ppm de ² H excédentaires), ΔBE ₁	58,2	116,2	52,3
Enrichissement en ² H du deuxième échantillon d'urines prélevé après administration de la dose (en ppm de ² H excédentaires), ΔBE ₂	84,9	117,6	97,2
Enrichissement en ² H du troisième échantillon d'urines prélevé après administration de la dose (en ppm de ² H excédentaires), ΔBE ₃	87,5	120,8	94,4

Note : DD = dose diluée.

TABLEAU 7. CALCUL DU VOLUME CUMULÉ D'URINES

	Adulte 1	Adulte 2	Enfant
Urines éliminées lors du premier prélèvement postérieur à l'administration de la dose	Volume = 135 mL = 135 g = 0,135 kg	Volume = 50 mL = 50 g = 0,05 kg	Volume = 240 mL = 240 g = 0,24 kg
Volume cumulé d'urines après le deuxième prélèvement postérieur à l'administration de la dose	135 + 60 = 195 mL = 195 g = 0,195 kg	50 + 100 = 150 mL = 150 g = 0,15 kg	240 + 105 = 345 mL = 345 g = 0,35 kg
Volume cumulé d'urines après le troisième prélèvement postérieur à l'administration de la dose	195 + 70 = 265 mL = 265 g = 0,265 kg	150 + 45 = 195 mL = 195 g = 0,195 kg	345 + 100 = 445 mL = 445 g = 0,445 kg

6.3.2.1. Adulte 1

- 1a) ECT calculée à l'aide du premier échantillon prélevé après administration de la dose sans tenir compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = (49,7426 \times 39,9846 \div 0,1032) \times (191,4 \div 58,2) \div (1\,000 \times 1,041) = 60,94$$

En tenant compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = 60,94 - (2 \times 0,135) = 60,94 - 0,27 = 60,67$$

- 1b) ECT calculée à l'aide du deuxième échantillon prélevé après administration de la dose sans tenir compte des urines éliminées :

$$\begin{aligned}\text{ECT (en kg)} &= (49,7426 \times 39,9846 \div 0,1032) \times (191,4 \div 84,9) \div (1\,000 \times 1,041) \\ &= 41,78\end{aligned}$$

En tenant compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = 41,78 - (2 \times 0,195) = 41,78 - 0,39 = 41,39$$

- 1c) ECT calculée à l'aide du troisième échantillon prélevé après administration de la dose sans tenir compte des urines éliminées :

$$\begin{aligned}\text{ECT (en kg)} &= (49,7426 \times 39,9846 \div 0,1032) \times (191,4 \div 87,5) \div (1\,000 \times 1,041) \\ &= 40,54\end{aligned}$$

En tenant compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = 40,54 - (2 \times 265) = 40,54 - 0,53 = 40,01$$

ECT moyenne (en kg) calculée à partir des deuxième et troisième échantillons prélevés après administration de la dose = 41,16 sans tenir compte des urines éliminées et 40,7 en en tenant compte.

L'équilibration entre l'eau deutérée et l'eau corporelle n'était pas achevée au moment du premier prélèvement (2 h 10 après que la dose a été consommée), ce qui s'est traduit par une surestimation de l'ECT.

6.3.2.2. *Adulte 2*

- 2a) ECT calculée à l'aide du premier échantillon prélevé après administration de la dose sans tenir compte des urines éliminées :

$$\begin{aligned}\text{ECT (en kg)} &= (99,41736 \times 27,898 \div 0,10130) \times (102,1 \div 116,2) \div (1\,000 \times 1,041) \\ &= 21,30\end{aligned}$$

En tenant compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = 21,30 - (2 \times 0,05) = 21,30 - 0,10 = 21,20$$

2b) ECT calculée à l'aide du deuxième échantillon prélevé après administration de la dose sans tenir compte des urines éliminées :

$$\begin{aligned}\text{ECT (en kg)} &= (99,41736 \times 27,898 \div 0,10130) \times (102,1 \div 117,6) \div (1\,000 \times 1,041) \\ &= 21,04\end{aligned}$$

En tenant compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = 21,04 - (2 \times 0,15) = 21,04 - 0,30 = 20,74$$

2c) ECT calculée à l'aide du troisième échantillon prélevé après administration de la dose sans tenir compte des urines éliminées :

$$\begin{aligned}\text{ECT (en kg)} &= (99,41736 \times 27,898 \div 0,10130) \times (102,1 \div 120,8) \div (1\,000 \div 1,041) \\ &= 20,49\end{aligned}$$

En tenant compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = 20,49 - (2 \times 0,195) = 20,49 - 0,39 = 20,10$$

ECT moyenne (en kg) calculée à partir des deuxième et troisième échantillons prélevés après administration de la dose = 20,94 sans tenir compte des urines éliminées et 20,42 en en tenant compte.

La durée nécessaire à l'équilibration varie beaucoup d'un individu à l'autre. Chez ce participant, l'équilibration entre l'eau deutérée et l'eau corporelle était presque achevée au moment du premier prélèvement (deux heures après que la dose a été consommée). Cela prend souvent cinq ou six heures pour que l'équilibration soit complètement réalisée. Le fait de disposer de trois échantillons prélevés après administration de la dose permet de s'assurer que l'on peut obtenir la valeur plateau de l'enrichissement.

6.3.2.3. *Enfant*

3a) ECT calculée à l'aide du premier échantillon prélevé après administration de la dose sans tenir compte des urines éliminées :

$$\begin{aligned}\text{ECT (en kg)} &= (54,9684 \times 32,039 \div 0,1717) \times (267,4 \div 52,3) \div (1\,000 \times 1,041) \\ &= 54,34\end{aligned}$$

En tenant compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = 54,34 - (2 \times 0,24) = 54,34 - 0,48 = 53,86$$

3b) ECT calculée à l'aide du deuxième échantillon prélevé après administration de la dose sans tenir compte des urines éliminées :

$$\begin{aligned}\text{ECT (en kg)} &= (54,9684 \times 32,039 \div 0,1717) \times (267,4 \div 97,2) \div (1\,000 \times 1,041) \\ &= 29,24\end{aligned}$$

En tenant compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = 29,24 - (2 \times 0,35) = 29,24 - 0,70 = 28,54$$

3c) ECT calculée à l'aide du troisième échantillon prélevé après administration de la dose sans tenir compte des urines éliminées :

$$\begin{aligned}\text{ECT (en kg)} &= (54,9684 \times 32,039 \div 0,1717) \times (267,4 \div 94,4) \div (1\,000 \times 1,041) \\ &= 29,48\end{aligned}$$

En tenant compte des urines éliminées :

$$\text{ECT (en kg)} = 29,48 - (2 \times 0,445) = 29,48 - 0,89 = 28,59$$

ECT moyenne (en kg) calculée à partir des deuxième et troisième échantillons prélevés après administration de la dose = 29,36 sans tenir compte des urines éliminées et 28,57 en en tenant compte.

Commentaire : Même si l'eau se renouvelle généralement plus vite chez l'enfant que chez l'adulte, l'équilibration entre la dose et l'eau corporelle n'était pas complètement atteinte au moment du premier prélèvement (trois heures après que la dose a été consommée) mais c'était le cas quatre heures après administration de la dose, lorsque le deuxième échantillon a été prélevé.

6.4. ESTIMATION DE LA COMPOSITION CORPORELLE À PARTIR DE L'ECT

L'ECT est utilisée pour estimer la masse maigre (MM) en supposant que l'hydratation de celle-ci s'élève à 73,2 % chez l'adulte :

$$\text{MM (en kg)} = \text{ECT (en kg)} \div 0,732$$

Pour un nourrisson ou un enfant, l’hydratation de la masse maigre dépend de l’âge du participant (voir les tableaux 1 et 2 à la section 3.3.1).

La masse grasse (MG) est calculée par différence entre le poids corporel et la masse maigre :

$$MG \text{ (en kg)} = \text{poids corporel (en kg)} - MM \text{ (en kg)}$$

Le résultat est souvent exprimé sous forme de pourcentage du poids corporel :

$$MG \text{ (en \%)} = MG \text{ (en kg)} \div \text{poids corporel (en kg)} \times 100$$

Le tableau 8 montre le calcul de la composition corporelle à partir de l’ECT.

TABLEAU 8. ESTIMATION DE LA COMPOSITION CORPORELLE À PARTIR DE L’ECT

	Adulte 1	Adulte 2	Enfant
ECT (en kg)	41,7	20,42	28,57
Coefficient d’hydratation (adultes : 0,732 ; enfants : voir le tableau 1)	0,732	0,732	0,747
MM (en kg) = ECT (en kg) ÷ coefficient d’hydratation	55,6	27,9	38,2
MG (en kg) = poids corporel (en kg) – MM (en kg)	24,4	19,5	12,3
MG (en % du poids corporel) = MG (en kg) ÷ poids corporel (en kg) × 100	30,5	41,2	24,3
MM (en % du poids corporel) = MM (en kg) ÷ poids corporel (en kg) × 100	69,5	58,9	75,7
ECT (en % du poids corporel) = ECT (en kg) ÷ poids corporel (en kg) × 100	50,9	43,1	56,6

6.5. INCIDENCE DES URINES ÉLIMINÉES

L’écart entre l’ECT calculée sans tenir compte des urines éliminées et celle qui est calculée en en tenant compte est relativement faible (1 à 3 % de l’ECT dans les exemples présentés ici, cf. tableau 9), c’est pourquoi certains laboratoires décident de ne pas en tenir compte afin de simplifier le mode opératoire. Cette petite différence peut toutefois être significative dans des études longitudinales

qui s'intéressent à des variations relativement faibles de la composition corporelle. S'il n'est pas possible de mesurer le volume des urines éliminées, il convient de noter la quantité de liquides absorbée et le poids total de ces liquides doit être soustrait à l'ECT calculée. Quelle que soit la démarche retenue pour une étude, le mode opératoire doit être le même pour tous les participants.

TABLEAU 9. INCIDENCE DES URINES ÉLIMINÉES SUR LE POURCENTAGE DE MASSE GRASSE CALCULÉ

	Adulte 1	Adulte 2	Enfant
ECT (en kg) sans prise en compte des urines éliminées	41,2	20,8	29,4
ECT obtenue (en kg) en tenant compte des urines éliminées (véritable ECT)	40,7	20,4	28,6
% d'écart par rapport à la véritable ECT	1,1	1,7	2,8
% de la masse grasse sans prise en compte des urines éliminées	29,7	39,6	22,2
% de la masse grasse en tenant compte des urines éliminées	30,5	41,2	24,3
Masse grasse (en kg) sans prise en compte des urines éliminées	23,8	19	11,2
Masse grasse obtenue (en kg) en tenant compte des urines éliminées	24,4	19,5	12,3
Différence entre les deux masses grasses (en kg) en % du poids corporel	0,8	1	2,1

7. CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

7.1. ÉTALONNAGE DU SPECTROMÈTRE

Toutes les valeurs obtenues sont comparées à la teneur naturelle de l'eau en deutérium et à des étalons d'eau enrichie dont la teneur en deutérium est connue. Il convient d'analyser les étalons comme s'il s'agissait d'échantillons au début et à la fin de chaque lot d'échantillons et régulièrement pendant l'utilisation de l'appareil afin de contrôler sa dérive instrumentale.

7.2. PRÉCISION DES ANALYSES

Pour estimer la précision des résultats obtenus, on peut analyser plusieurs fractions d'un même échantillon. En SMI, il est possible d'atteindre une précision (écart type σ) d'1 ppm de ^2H excédentaires.

7.3. VARIATIONS DE MESURE

On peut comparer l'ECT calculée à partir de chaque échantillon prélevé après administration de la dose afin d'estimer les variations de mesure, lesquelles résultent des imprécisions liées à l'équilibration, au prélèvement, à la manipulation et à l'analyse. Le premier échantillon d'urines prélevé après administration de la dose n'est généralement pas pris en compte, car l'équilibration entre les urines et l'ECT peut ne pas être atteinte (ce qui conduit à une surestimation manifeste de l'ECT, comme on le voit dans les exemples de l'adulte 1 et de l'enfant présentés dans la section 6.3.2). Les deuxième et troisième échantillons d'urines prélevés après consommation de la dose aboutissent à des valeurs qui ne s'écartent pas de plus de 2 % de leur moyenne.

7.4. DÉTECTION DES VALEURS ABERRANTES

L'ECT mesurée peut être comparée à une valeur prédite en appliquant la méthode de Bland et Altman [25] et les résultats signalés à des fins de contrôle ou de réanalyse s'ils se trouvent en dehors de la plage normale. Si l'on ne dispose pas de valeur prédite, on peut se servir de la relation entre l'ECT et le cube de la taille : $\text{ECT} = 7,4 \times \text{taille}^3$ (en m^3), validée chez l'enfant et l'adulte [26]. Si la valeur obtenue se trouve en dehors des intervalles de confiance à 95 % associés à cette formule, les résultats et les calculs doivent être vérifiés et les échantillons réanalysés si nécessaire. Toutefois, on s'attend à ce que 2,5 % des mesures dépassent de plus de 2σ la différence moyenne (chez les participants obèses, dont l'IMC est élevé) et que 2,5 % des mesures soient inférieures à la différence moyenne moins 2σ (chez les participants dont l'IMC est faible).

La figure 15 présente un exemple de comparaison. L'ECT a été évaluée par dilution de deutérium chez 131 adultes qui présentaient différents états pathologiques comme un cancer du pancréas ou des poumons, de l'hypertension ou un diabète de type 2. La différence moyenne entre l'ECT calculée grâce à un enrichissement en deutérium et l'ECT calculée grâce à la taille était de 0,5 kg. Les bornes de l'intervalle de confiance à 95 % associé à cet écart sont -8,8 et 9,8 kg.

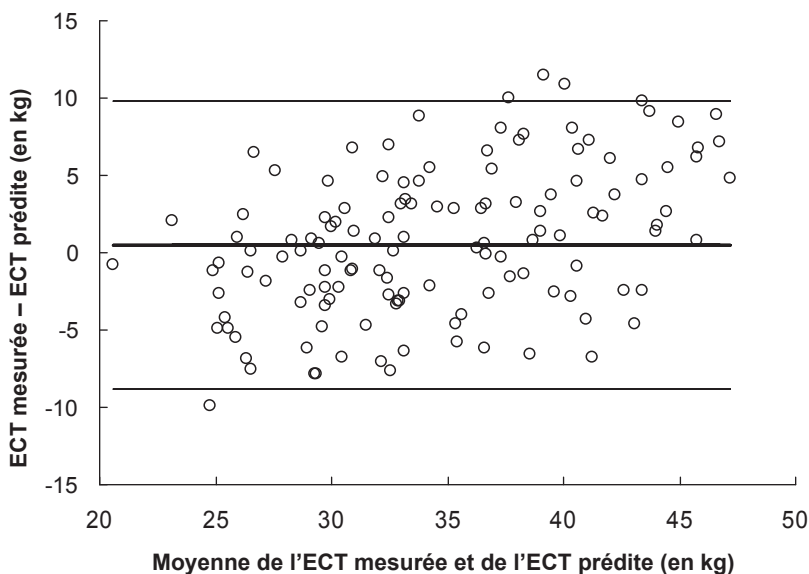


FIG. 15. Graphique de Bland-Altman obtenu pour une ECT mesurée en diluant du deutérium et une ECT estimée grâce à la taille [26].

8. RÉCAPITULATIF DES OPÉRATIONS ESSENTIELLES À EFFECTUER POUR QUE LES DONNÉES SOIENT DE BONNE QUALITÉ

Préparation des doses :

- Les doses doivent être pesées avec une bonne précision (au moins 0,001 g). Il est préférable que cette opération soit effectuée dans un laboratoire d'analyse par des scientifiques qualifiés.

Sur le terrain :

- Formation d'hommes de terrain : Des hommes de terrain bien formés peuvent apporter leur concours aux relevés anthropométriques et aux prélèvements d'échantillons d'urines mais il faut qu'ils soient conscients de

l'importance qu'il y a à ce que la taille et le poids soient mesurés avec soin et que toutes les données soient consignées avec précision.

- Les participants doivent consommer une quantité normale de liquides et d'aliments la veille du jour où les mesures sont effectuées et ne doivent pas se fatiguer après le dernier repas de ce jour-là afin d'éviter une déshydratation et l'épuisement des réserves de glycogène.
- Les participants doivent porter des vêtements légers lorsqu'ils sont pesés (à 0,1 kg près). Le poids des vêtements portés pendant la mesure doit être déduit du poids mesuré afin d'obtenir le poids corporel.
- Avant ouverture, le flacon doit être retourné plusieurs fois afin de mélanger l'éventuelle buée qui s'est déposée sur le bouchon avec le reste du liquide.
- Le flacon ne doit pas être ouvert avant le moment où la dose doit être consommée.
- Il convient de s'assurer que toute la dose est consommée en ajoutant de l'eau dans le flacon et en demandant au participant de la boire.
- Heures de prélèvement : Laisser suffisamment de temps (quatre à six heures) pour que l'équilibration du traceur s'effectue. Lorsque le participant est âgé ou malade, prévoir six à huit heures. Le fait de prélever trois échantillons après administration de la dose permet de connaître la valeur du plateau d'enrichissement.
- Une étiquette où figurent l'identifiant du participant et la date et l'heure de prélèvement doit être collée sur les tubes qui contiennent les échantillons.
- Tous les éléments doivent être notés sur la fiche de données du participant.
- Ces renseignements doivent être reportés sur un tableur, par exemple Microsoft Excel, dès que possible.
- Les fiches papier doivent être conservées par mesure de précaution.

9. LISTE DE QUESTIONS-RÉPONSES FRÉQUENTES

Q. Pourquoi ai-je obtenu une valeur négative pour le pourcentage de masse grasse ?

R. Une valeur négative apparaît lorsque l'on n'a pas laissé suffisamment de temps pour que l'équilibration entre la dose de deutérium et l'eau corporelle soit terminée ou lorsque la dose n'a pas été complètement consommée. Cela se traduit par un faible enrichissement en deutérium, lequel entraîne une surestimation de la masse de l'eau corporelle et, par conséquent, aboutit à une masse maigre élevée et à un faible pourcentage de masse grasse.

Q. À quelle fréquence puis-je répéter une mesure ?

R. Chez l'adulte, il faut environ cinq semaines, dans les régions tropicales, pour que la dose d'eau deutérée soit éliminée de l'eau corporelle et pour que la concentration en deutérium revienne à sa valeur normale. Cette durée s'élève à dix semaines dans les régions tempérées. Néanmoins, comme la quantité d'eau corporelle est calculée par différence entre les concentrations en deutérium des échantillons prélevés avant et après administration de la dose, il n'est pas nécessaire d'attendre aussi longtemps avant de répéter une mesure effectuée après équilibration du deutérium, laquelle ne prend que quelques heures. Il faut dans ce cas prélever un deuxième échantillon de référence le jour où cette mesure est réalisée. Lorsque la durée qui sépare ces mesures est courte, il convient de limiter autant que possible la consommation d'eau entre le moment où la dose est absorbée et le dernier prélèvement d'échantillon d'urines le jour où la deuxième mesure est effectuée. L'effet de dilution induit par l'eau consommée durant cette période est plus important pour cette mesure que pour la première.

Q. Pourquoi est-il nécessaire de prélever trois échantillons après administration de la dose ?

R. Il est nécessaire de prélever trois échantillons après administration de la dose afin de s'assurer que l'enrichissement a atteint le plateau. Deux échantillons pour lesquels l'enrichissement est identique (à 2 % près) permettent de confirmer que l'équilibration entre la dose et l'eau corporelle est achevée. Il arrive parfois, chez des participants pour lesquels la vitesse de renouvellement de l'eau dans le corps est faible, que l'équilibration entre la dose et l'eau corporelle ne soit pas terminée au bout de cinq ou six heures. Ne pas essayer de gagner du temps en interrompant les prélèvements d'urines six heures après administration de la dose chez les participants âgés. Réaliser une étude pilote afin de vérifier quelle est la durée d'équilibration dans les conditions locales avant de commencer l'étude principale. Consulter des personnes plus expérimentées afin d'examiner les résultats de cette étude.

Q. Est-il nécessaire de rester à jeun durant les examens ?

R. Le fait de rester à jeun pendant les examens permet d'obtenir une estimation plus précise de l'ECT. Noter le volume de liquides absorbés et le soustraire de l'ECT calculée si le volume des urines éliminées n'est pas mesuré.

Appendice I

INFORMATIONS GÉNÉRALES CONCERNANT LA SÛRETÉ DE L'EAU DEUTÉRÉE

I.1. ISOTOPES DE L'HYDROGÈNE

Un atome est constitué d'un noyau central composé de neutrons et de protons. Ce noyau est entouré d'électrons qui gravitent autour de lui. Les protons portent une charge positive de 1 et leur masse vaut à peu près 1 unité de masse atomique (u). Les neutrons sont électriquement neutres et leur masse s'élève à environ 1 u. Les électrons portent une charge négative de 1 et leur masse est égale à 0,00055 u.

Les atomes qui ne comportent pas le même nombre de protons sont appelés des éléments. Ainsi, l'hydrogène compte un proton, le carbone six et l'oxygène huit. Les isotopes d'un élément ont le même nombre de protons mais diffèrent par le nombre de neutrons. Un isotope stable n'est pas radioactif et est naturellement présent dans l'environnement, y compris dans le corps humain, dans des proportions appelées « teneur naturelle » de l'isotope. La plupart des éléments possèdent un ensemble d'isotopes stables différents. Tous les atomes d'un élément comportent un noyau dont le nombre de protons est identique alors que le nombre de neutrons peut varier s'il existe plus d'une combinaison stable. Les isotopes stables de plusieurs éléments (carbone, hydrogène, oxygène et azote) ont été abondamment utilisés pour des recherches biomédicales.

L'hydrogène est constitué d'un noyau formé d'un seul proton (chargé positivement) et d'un électron (chargé négativement). Le proton a une masse de 1, par conséquent, la masse de l'hydrogène est de 1. Cet isotope stable est également appelé protium. Le noyau du deutérium, un isotope de l'hydrogène stable et plus lourd, contient un proton et un neutron (qui n'est pas chargé et a une masse de 1). La masse du deutérium s'élève donc à deux. La masse d'un élément est souvent indiquée en haut à gauche de la lettre qui symbolise l'élément en question. L'hydrogène est donc représenté par ^1H et le deutérium par ^2H . Le deutérium est également souvent symbolisé par la lettre D. Il a été découvert en 1932.

Le noyau de l' hydrogène comporte un proton	^1H (isotope stable)
Si le noyau contient un seul neutron, il s'agit de deutérium	^2H (isotope stable)
Si le noyau contient deux neutrons, il s'agit de tritium	^3H (radioactif)

La teneur naturelle du deutérium s'élève à 0,015 %. Cela signifie qu'une femme adulte de 55 kg dont la masse d'eau corporelle s'élève à 30 kg contient environ 4,5 g de deutérium dans son eau corporelle.

L'eau deutérée est de l'eau dans laquelle 99,8 ou 99,9 % des atomes d'hydrogène se trouvent sous forme de deutérium. On parle de $^2\text{H}_2\text{O}$ ou de D_2O à 99,8 % (ou 99,9 %). L'eau deutérée peut être utilisée pour mesurer la masse d'eau présente dans le corps (l'ECT) par dilution isotopique.

1.2. SÛRETÉ DE L'EAU DEUTÉRÉE

Les isotopes stables sont utilisés dans les études sur le métabolisme humain depuis plus d'un demi-siècle. Certes, les isotopes stables de l'hydrogène n'émettent pas de rayonnements potentiellement nocifs, mais la masse du deutérium est de 2 (^2H) et la masse de l'hydrogène est de 1 (^1H). La différence de masse entre le deutérium et l'hydrogène (un facteur deux) est plus élevée que pour toute autre paire d'isotopes stables. Cette différence peut provoquer des « effets isotopiques » importants lorsque la concentration d'eau deutérée dans les tissus est très élevée (> 15 %). Ces effets isotopiques résultent du fait que la présence de deutérium dans une molécule se traduit par une diminution de la taille des liaisons covalentes, ce qui les rend plus solides et plus résistantes aux ruptures. C'est pourquoi les molécules qui contiennent du deutérium présentent une vitesse de réaction légèrement différente de celles qui contiennent seulement de l'hydrogène. La différence de vitesse de réaction entre une réaction qui fait intervenir une molécule qui ne comprend que de l'hydrogène et une réaction à laquelle participe une molécule qui contient du deutérium est appelée « effet isotopique cinétique » et peut apparaître lors de réactions enzymatiques à l'intérieur de l'organisme. Des études chez l'animal ont montré que le fait que des tissus contiennent plus de 15 % d'eau marquée au deutérium a de nombreuses conséquences, parmi lesquelles une altération de la synthèse des protéines et des acides nucléiques, une modification de la structure et de la stabilité des biopolymères, une modification de la vitesse des réactions enzymatiques, des perturbations lors de la division cellulaire et des changements morphologiques [27]. L'effet global du marquage au deutérium semble être une dépression du métabolisme tissulaire due au fait que les vitesses de réaction sont plus lentes *in vivo* pour les composés qui contiennent du deutérium. Même si certains effets toxiques du marquage au deutérium sont réversibles, des concentrations très élevées de cet isotope peuvent entraîner la mort. Chez les mammifères, aucun effet nocif n'a été détecté lorsque la concentration de deutérium est inférieure à 15 %. Une concentration de deutérium de 15 % doit être maintenue par une absorption continue de doses avant que des effets indésirables ne deviennent

manifestes [27]. Toutefois, des effets moindres, par exemple des crises éphémères de vertiges, ont été signalés chez des êtres humains adultes qui consommaient suffisamment d'eau deutérée pour que l'enrichissement de leur eau corporelle soit compris entre 0,35 et 0,65 % [27]. Certains ont avancé qu'il existe un seuil pour l'apparition d'effets secondaires transitoires visibles lorsque l'enrichissement de l'eau corporelle excède 0,2 %. Le seuil de toxicité du deutérium a été fixé à 15 % et est bien supérieur aux concentrations envisageables pour des études chez l'homme [27]. La quantité de deutérium consommée lors des études portant sur la lactation humaine et sur la composition corporelle conduit à un enrichissement de l'eau corporelle qui culmine à environ 0,1 % chez la mère et à moins de la moitié de cette valeur chez son bébé. À ces concentrations, aucun effet secondaire indésirable n'a été signalé.

Appendice II

EXEMPLE DE FICHE DE PRÉLÈVEMENT UTILISÉE POUR ESTIMER L'ECT PAR DILUTION D'EAU DEUTÉRÉE

Personne qui a réalisé l'examen : _____ Date : ____/____/____
Jour Mois Année

I. Participant

Nom : _____ Code/Identifiant : _____
Poids : _____, ____ kg Taille : _____, ____ cm IMC _____ kg/m²
Date de naissance : ____/____/____ Âge : _____ ans Sexe : M ☐ F ☐
En bonne santé : OUI ☐ NON ☐
Notes (santé) : _____

II. Dose

Numéro du flacon qui contient la dose : _____
Poids de la dose : _____, _____ g
Le participant est-il à jeun de la veille ? OUI ☐ NON ☐
Sinon, combien de temps est-il resté à jeun avant d'absorber la dose ? _____
Le récipient a-t-il été ouvert juste avant administration de la dose ? OUI ☐ NON ☐
La dose a-t-elle été consommée correctement ? OUI ☐ NON ☐
Sinon, quel est le poids de la dose qui n'a pas été consommé ? _____, _____
Le récipient a-t-il été rincé dans 2 × 50 mL d'eau ? OUI ☐ NON ☐
La même paille a-t-elle été utilisée ? OUI ☐ NON ☐
Notes : _____

III. Heures de prélèvement et volumes des échantillons

Heure du prélèvement d'urines de référence : ____h_____
Heure où la dose a été absorbée : ____h_____
Prélèvements d'urines effectués après administration de la dose :
Premier prélèvement Heure : ____h_____
Deuxième prélèvement Heure : ____h_____
Troisième prélèvement Heure : ____h_____
Volume : _____ mL
Volume : _____ mL
Volume : _____ mL

Appendice III

LISTE DE MATÉRIEL

III.1. PRÉPARATION DES DOSES ET PRÉPARATION DES DOSES DILUÉES

Eau deutérée (teneur en ^2H de 99,8 ou 99,9 %).

Eau potable.

Grands flacons à bouchon à vis pour la préparation des doses (par ex. des flacons en verre borosilicaté de cinq litres munis d'un bouchon à vis PTFE).

Flacons destinés à recevoir les doses (à bouchon à vis et étanches, par ex. des flacons grande ouverture étanches, en polypropylène, stérilisables à l'autoclave et de 120 mL).

Éprouvette graduée en verre utilisée pour verser les doses dans les flacons de dose.

Entonnoir en verre ou en plastique.

Fiole jaugée (de 100 mL) utilisée pour diluer les doses.

Micropipette (de 200 μL) et embouts.

Balance de grande portée capable de peser des objets de 10 kg à 0,1 g près.

Balance électronique précise à 0,001 g pour peser les doses.

Balance électronique précise à 0,0001 g pour diluer les doses.

Réfrigérateur ou congélateur (à -20°C) pour stocker les doses.

Congélateur (à -20°C) pour conserver les échantillons d'urines.

Régulateurs de tension pour tous les appareils électroniques.

III.2. SUR LE TERRAIN

Doses (préparées en laboratoire).

Eau potable.

Pailles.

Balance précise à 0,1 kg près pour peser les participants.

Toise destinée à mesurer la taille des participants.

Éprouvette graduée d'un litre en polyéthylène destinée à mesurer les volumes d'urines.

Collecteur d'urines (éprouvette graduée, bocal en polyéthylène ou collecteur adapté à la cuvette des toilettes).

Tubes munis de bouchons à vis pour les échantillons d'urines (par ex. des cryotubes autoporteurs de 4 mL à filetage intérieur).

Étiquettes pour les tubes d'échantillon.

Stylos indélébiles pour écrire sur les étiquettes.

Sachets zip destinés à conserver les échantillons.

Gants jetables.

Sacs ou boîtes en plastique pour stocker ou transporter les échantillons d'urines.

Montre (pour noter l'heure où les prélèvements sont effectués).

Réfrigérateur pour conserver les doses si l'on travaille sur le terrain pendant plusieurs jours sans revenir au centre.

Glacière et bloc réfrigérant (pour entreposer les échantillons sur le terrain jusqu'à ce qu'ils puissent être congelés).

Appendice IV

FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE

Les propriétés physiques de l'eau deutérée ($^2\text{H}_2\text{O}$) ne sont pas les mêmes que celles de l'eau normale.

Lorsque l'eau deutérée se mélange à l'eau corporelle, trois formes isotopiques coexistent (fig. 16). Ainsi, dans un échantillon d'eau contenant 1 000 mg/kg (ppm) d'eau deutérée, la probabilité qu'un H quelconque soit un ^2H est égale à 0,001 et la probabilité qu'il soit un ^1H s'élève à 0,999.

Pour toute molécule d'eau, la probabilité que les deux H soient des ^1H ($^1\text{H}-\text{O}-^1\text{H}$) est égale à :

$$P(^1\text{H}-\text{O}-^1\text{H}) = 0,999 \times 0,999 = 0,998001 \text{ ou } 99,8001 \%$$

La probabilité que les deux H soient des ^2H ($^2\text{H}-\text{O}-^2\text{H}$) s'élève à :

$$P(^2\text{H}-\text{O}-^2\text{H}) = 0,001 \times 0,001 = 0,000001 \text{ ou } 0,0001 \%$$

La probabilité qu'une molécule d'eau quelconque contienne un ^1H et un ^2H est de :

$$P(^1\text{H}^2\text{HO}) = 2 \times 0,999 \times 0,001 = 0,001998 \text{ ou } 0,1998 \%$$

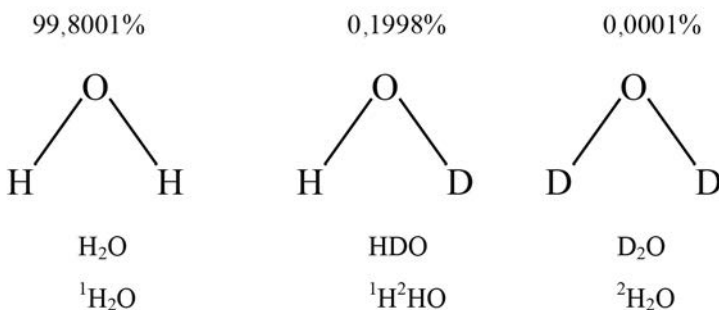


FIG. 16. Proportions respectives des différentes molécules dans un échantillon d'eau contenant 0,1 % (1 000 ppm) de ^2H .

Le facteur deux est dû au fait qu'il existe deux combinaisons possibles, $^1\text{H}-\text{O}-^2\text{H}$ et $^2\text{H}-\text{O}-^1\text{H}$, qui sont équivalentes.

L'énergie de la liaison entre le deutérium (^2H ou D) et l'oxygène (O) est légèrement plus élevée que celle de la liaison entre l'hydrogène (^1H) et l'oxygène. Cela peut provoquer un fractionnement isotopique lorsque l'eau subit une modification chimique ou physique. Un tel fractionnement se produit lorsque de l'eau liquide se transforme en vapeur d'eau (gaz).

Il y a moins de deutérium dans la vapeur d'eau que dans le volume principal d'eau liquide dont la vapeur est issue. Le coefficient de fractionnement (f) pour le deutérium entre la vapeur d'eau (un gaz) et l'eau liquide s'élève à 0,941 à 25° C.

Il y a très peu de fractionnement isotopique à l'intérieur du corps. Dans le plasma, les urines, le lait maternel et la sueur, le fractionnement est faible. En revanche, l'eau qui sort du corps sous forme de vapeur d'eau au cours de la respiration ou par évaporation transdermique contient moins de deutérium que l'eau corporelle. L'évaporation transdermique est une perte insensible en eau par la peau sans que cette eau soit sécrétée par les glandes sudoripares. Une augmentation des pertes insensibles en eau, qui contiennent moins de deutérium que l'eau corporelle, a donc pour effet de concentrer l'eau deutérée qui reste, ce qui peut conduire à une sous-estimation de l'ECT et par conséquent à une surestimation de la masse grasse. Les participants ne doivent donc pas pratiquer une activité physique excessive durant la période comprise entre l'administration de la dose et les prélèvements d'échantillons d'urines.

De même, la vapeur d'eau condensée sur les bouchons des flacons utilisés pour stocker les doses, les échantillons et les étalons contient moins de deutérium que le reste du liquide. Les flacons doivent donc être retournés ou centrifugés pour mélanger ces deux types d'eau avant de les ouvrir et ne doivent pas être laissés ouverts.

L'exemple suivant (fig. 17) montre l'effet du fractionnement lorsque 100 μL de buée sont collés au bouchon d'un tube contenant 4 mL de salive et dont la concentration initiale en ^2H s'élevait à 0,1 % (1 000 ppm).

L'effet du fractionnement est plus prononcé lorsque le volume de salive est faible. Par exemple, si un tube qui contient 1 mL de salive reste ouvert et si 100 μL de liquide s'évaporent, il ne restera dans le tube que 900 μL (0,9 mL), qui contiendront 1 006 ppm de ^2H (fig. 18).

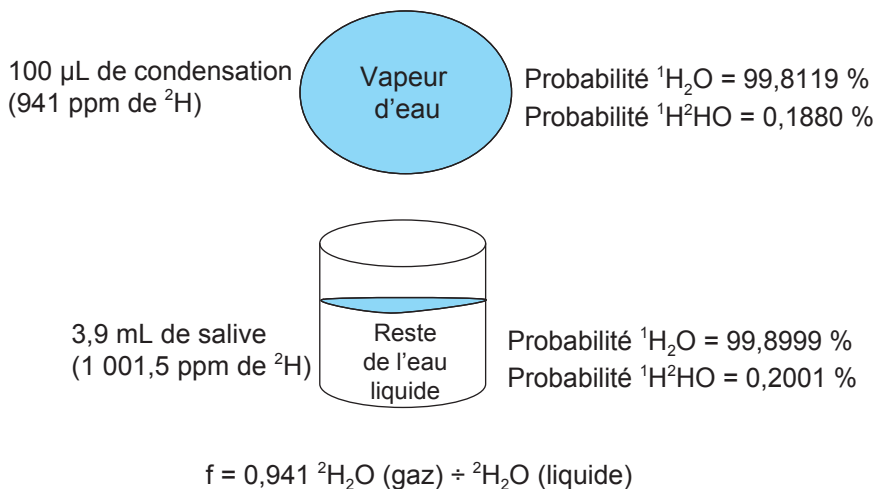


FIG. 17. Effet du fractionnement isotopique sur un échantillon de salive de 4 mL contenant initialement 0,1 % (1 000 ppm) de ^2H .

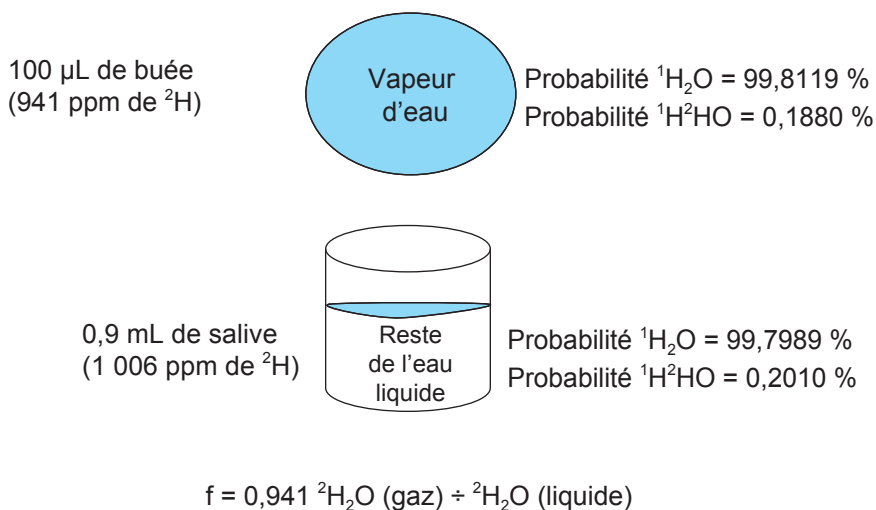


FIG. 18. Effet du fractionnement isotopique sur un échantillon de salive d'1 mL contenant initialement 0,1 % (1 000 ppm) de ^2H .

GLOSSAIRE

deutérium. Isotope stable de l'hydrogène dont le symbole est ^2H . Il est parfois symbolisé par la lettre D.

dilution isotopique. Une quantité connue d'un composé marqué est ajoutée à un système biologique et se mélange complètement avec un volume de ce composé. La dilution du composé marqué dans le composé non marqué et endogène permet de mesurer ce volume. Ce principe est à la base de la méthode de mesure de l'ECT par dilution de deutérium.

eau corporelle totale. Expression employée pour désigner l'ensemble de l'eau contenue dans l'organisme, eau qui représente 70 à 75 % du poids corporel à la naissance puis diminue pour atteindre 50 à 60 % de ce même poids chez un adulte mince et moins de 40 % chez un adulte obèse. La masse maigre est constituée d'environ 73,2 % d'eau chez l'adulte. La mesure de l'eau corporelle totale (ECT) permet de déterminer la quantité de masse maigre. La masse grasse est calculée par différence entre le poids corporel et la masse maigre. L'ECT comprend à la fois le liquide intracellulaire et le liquide extracellulaire.

eau deutérée. Eau dans laquelle 99,8 ou 99,9 % des atomes d'hydrogène se trouvent sous forme de deutérium ($^2\text{H}_2\text{O}$ ou D_2O).

échange isotopique. Le deutérium (^2H) peut se substituer à des atomes d'hydrogène (^1H) dans des molécules d'eau et dans d'autres composés. Ce phénomène est appelé échange isotopique.

échange non aqueux. Le fait, pour des isotopes présents dans l'eau corporelle, de se fixer sur d'autres composés présents dans l'organisme que l'eau est appelé échange non aqueux. Le deutérium se substitue par exemple aux atomes d'hydrogène échangeables (surtout ceux des groupes $-\text{NH}$ et $-\text{OH}$) dans les protéines du corps. Les isotopes de l'hydrogène sont également emprisonnés dans les graisses et dans les protéines lorsqu'elles sont synthétisées, c'est pourquoi le volume de distribution, également appelé espace de dilution, du traceur est légèrement plus grand que l'ECT : il est égal à 1,041 fois l'ECT. Cette différence est prise en compte en divisant le volume de distribution calculé (N_D , en moles) par 1,041 pour obtenir l'ECT.

enrichissement. Comme les isotopes stables sont naturellement présents, des échantillons de référence doivent être prélevés avant administration du

composé marqué. L'enrichissement est la concentration d'un isotope au-delà de sa teneur de référence. La concentration de deutérium dans l'eau corporelle (au-delà de la teneur de référence) peut être mesurée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) ou par spectrométrie de masse isotopique (SMI).

équilibre. Les atomes d'hydrogène des molécules d'eau présentes dans l'organisme ne sont pas fixés en permanence sur les atomes d'oxygène, mais subissent constamment des échanges : ils ne restent jamais dans le même état. Lorsque quelqu'un boit une dose d'eau deutérée, il n'y a pas simplement mélange entre l'eau deutérée ($^2\text{H}_2\text{O}$) et l'eau contenue dans le corps. Des échanges se produisent entre les atomes de deutérium du $^2\text{H}_2\text{O}$ et les atomes d'hydrogène des molécules d'eau, de sorte qu'au bout de quelques heures, la probabilité de détecter une molécule de $^2\text{H}_2\text{O}$ devient très faible. La plupart des molécules d'eau restent sous forme d' $^1\text{H}_2\text{O}$ mais on en trouve quelques-unes sous forme d' $^1\text{H}^2\text{HO}$ après échange d'un ^1H par un ^2H . Ce processus est appelé équilibre.

fractionnement. Le fractionnement isotopique est l'expression employée pour désigner le fait que des molécules qui contiennent des isotopes distincts présentent des vitesses de réaction légèrement différentes. Cela peut se produire en cas de modification physique, par exemple une évaporation. L'eau qui sort de l'organisme sous forme de vapeur d'eau au cours de la respiration contient moins de deutérium que l'eau corporelle. De même, la vapeur d'eau qui se condense sur les bouchons des flacons utilisés pour stocker des doses, des échantillons et des étalons contient moins de deutérium que le reste du liquide. Les flacons doivent donc être retournés pour en mélanger le contenu avant d'être ouverts.

isotopes. Éléments chimiques qui comportent le même nombre de protons mais un nombre de neutrons différent.

Le noyau de l'**hydrogène** comporte un proton ^1H (isotope stable)

Si le noyau contient un seul neutron, il s'agit de **deutérium** ^2H (isotope stable)

Si le noyau contient deux neutrons, il s'agit de **tritium** ^3H (isotope radioactif)

isotope radioactif. Le noyau des isotopes radioactifs est instable et émet un rayonnement ionisant sous forme de particule ou d'onde. La décroissance radioactive est le processus par lequel un noyau libère de l'énergie pour

atteindre un état de plus basse énergie. Le tritium est l'isotope radioactif de l'hydrogène. Sa période est de 12,35 ans.

isotope stable. Les isotopes stables ne sont pas radioactifs et sont naturellement présents dans l'environnement, y compris dans le corps humain, à des concentrations appelées « teneur naturelle » de l'isotope. L'hydrogène compte deux isotopes stables : le ^1H ou protium, son isotope stable le plus important, et le ^2H ou deutérium, plus rare. Dans l'eau naturelle, environ 0,015 % des atomes d'hydrogène se trouvent sous forme de deutérium (^2H).

masse maigre. Expression utilisée dans les études de composition corporelle pour désigner la partie du corps qui n'est pas grasse. La masse maigre comprend l'eau, les protéines, les minéraux osseux et les minéraux non osseux. La masse maigre contient 73,2 % d'eau chez un adulte en bonne santé [9] mais son hydratation est plus élevée chez les enfants, après le premier trimestre de grossesse et dans certaines conditions cliniques.

mesure de l'eau corporelle totale par dilution d'eau deutérée. Technique bien établie pour mesurer l'eau corporelle totale (ECT) et dans laquelle la composition corporelle est estimée à l'aide d'un modèle à deux compartiments en supposant que l'organisme est composé d'une masse grasse et d'une masse maigre (MM). Chez un adulte en bonne santé, la masse maigre est constituée à 73,2 % d'eau. $\text{ECT (en kg)} \div 0,732 = \text{MM (en kg)}$. La masse grasse est calculée par différence entre le poids corporel et la masse maigre.

pertes insensibles en eau. Cette expression désigne l'eau perdue par le corps au cours de la respiration et par évaporation transdermique, cette dernière étant une perte en eau par la peau sans que cette eau soit sécrétée par les glandes sudoripares. L'eau qui sort de l'organisme sous forme de vapeur d'eau contient moins de deutérium que l'eau corporelle liquide en raison du fractionnement isotopique. Une correction est effectuée pour tenir compte des pertes insensibles en eau lorsque l'on estime, à l'aide de la technique de la dose d'eau deutérée administrée à la mère, la quantité d'eau consommée qui ne provient pas du lait maternel chez des bébés nourris au sein.

spectromètre de masse. Instrument de mesure qui sépare des ions sous vide en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z). Les principaux éléments d'un spectromètre de masse sont le système d'injection, la source d'ionisation, l'analyseur, le détecteur et le système de pompage.

spectromètre de masse isotopique. Spectromètre de masse à faible résolution et à secteur magnétique. L'échantillon doit être introduit dans la source d'ionisation du spectromètre sous forme de gaz pur (CO_2 , N_2 ou H_2). Ce gaz est ionisé par l'impact d'électrons émis par un filament chaud et les ions résultants sont séparés dans un champ magnétique. Les détecteurs utilisés sont des cylindres de Faraday. Ce type de spectromètre permet de mesurer avec une très grande précision des enrichissements très faibles, voire équivalents à ceux rencontrés dans l'environnement.

spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). Technique utilisée pour mesurer l'enrichissement d'échantillons de salive en deutérium dans des études sur la composition corporelle et sur la consommation de lait maternel. La IRTF n'est pas une méthode aussi sensible que la spectrométrie de masse isotopique et ne peut être utilisée pour analyser des échantillons d'urines.

teneur isotopique. Nombre d'atomes d'un isotope stable donné exprimé en pourcentage du nombre total d'atomes du même élément. Ainsi,

$$\text{Teneur isotopique en } ^2\text{H} = \frac{[^2\text{H}]}{[^1\text{H}] + [^2\text{H}] + [^3\text{H}]} \times 100$$

En pratique, le nombre d'atomes de ^3H est négligeable et est donc ignoré.

volume de distribution. Volume (N) dans lequel l'isotope se répartit, également appelé espace de dilution. Dans les études qui mesurent l'ECT par dilution de deutérium, le volume de distribution (N_D) est plus grand que l'ECT en raison des échanges non aqueux.

RÉFÉRENCES

- [1] SCHOELLER, D.A., “Hydrometry”, in Human Body Composition, 2nd edn (HEYMSFIELD, S.B., LOHMAN, T.G., WANG, Z.M., GOING, S.B., Eds), Human Kinetics, Champaign, IL (2005) 35–49.
- [2] PARKER, L., REILLY, J.J., SLATER, C., WELLS, J.C.K., PITSILADIS, Y., Validity of six field and laboratory methods for measurement of body composition in boys, *Obes. Res.* **11** (2003) 852–858.
- [3] WELLS, J.C.K., FEWTRELL, M.S., Measuring body composition, *Arch. Dis. Child.* **91** (2006) 612–617.
- [4] PROSSER, S.J., SCRIMGEOUR, C.M., High precision determination of $^2\text{H}/^1\text{H}$ in H_2 and H_2O by continuous-flow isotope ratio mass spectrometry, *Anal. Chem.* **67** (1995) 1992–1997.
- [5] JENNINGS, G., BLUCK, L., WRIGHT, A., ELIA, M., The use of infrared spectrophotometry for measuring body water spaces, *Clin. Chem.* **45** 7 (1999) 1077–1081.
- [6] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Assessment of Body Composition and Total Energy Expenditure in Humans by Stable Isotope Techniques, IAEA Human Health Series No. 3, IAEA, Vienna (2009).
- [7] COWARD, W.A., et al., Breast-milk intake measurement in mixed-fed infants by administration of deuterium oxide to their mothers, *Hum. Nutr. Clin. Nutr.* **36C** (1982) 141–148.
- [8] DAVIES, P.S.W., WELLS, J.C.K., Calculation of total body water in infancy, *Eur. J. Clin. Nutr.* **48** (1994) 490–495.
- [9] PACE, N., RATHBUN, E.N., Studies on body composition, III. The body water and chemically combined nitrogen content in relation to fat content, *J. Biol. Chem.* **158** (1945) 685–691.
- [10] RITZ, P., Body water spaces and cellular hydration during healthy aging, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **904** (2000) 474–483.
- [11] SCHOELLER, D.A., Changes in total body water with age, *Am. J. Clin. Nutr.* **50** (1989) 1176–1181.
- [12] WANG, Z.M., et al., Hydration of fat-free body mass: review and critique of a classic body-composition constant, *Am J. Clin. Nutr.* **69** (1999) 833–841.
- [13] HEWITT, M.J., GOING, S.B., WILLIAMS, D.P., LOHMAN, T.G., Hydration of fat-free mass in children and adults: Implications for body composition assessment, *Am. J. Physiol.* **265** (1993) E88–E95.
- [14] LOHMAN, T.G., HARRIS, M., TEIXEIRA, P.J., WEISS, L., Assessing body composition and changes in body composition: another look at dual-energy X-ray absorptiometry, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **904** (2000) 45–54.
- [15] LOHMAN, T.G., “Applicability of body composition techniques and constants for children and youths”, *Exercise and Sports Science Reviews* (PANDOLF, K.B., Ed.), MacMillan, New York (1986) 325–357.
- [16] LOHMAN, T.G., “Estimating body composition in children and the elderly”, *Advances in Body Composition Assessment (Current Issues in Exercise Science, Monograph 3)* (LOHMAN, T.G., Ed.), Human Kinetics, Champaign, IL (1992) 65–77.

- [17] FOMON, S.J., HASCHKE, F., ZIEGLER, E.E., NELSON, S.E., Body composition of reference children from birth to age 10 years, *Am. J. Clin. Nutr.* **35** (1982) 1169–1175.
- [18] BUTTE, N.F., HOPKINSON, J.M., WONG, W.W., SMITH, E.O., ELLIS, K.J., Body composition during the first 2 years of life: An updated reference, *Pediatr. Res.* **47** (2000) 578–585.
- [19] FOMON, S.J., NELSON, S.E., Body composition of the male and female reference infant, *Annu. Rev. Nutr.* **22** (2002) 1–17.
- [20] WELLS, J.C., et al., Four compartment model of body composition in children: density and hydration of fat-free mass and comparison with simpler models, *Am. J. Clin. Nutr.* **69** (1999) 904–912.
- [21] LOF, M., FORSUM, E., Hydration of fat-free mass in healthy women with special reference to the effect of pregnancy, *Am. J. Clin. Nutr.* **80** (2004) 960–965.
- [22] COLLEY, R.C., BYRNE, N.M., HILLS, A.P., Implications of the variability in time to isotopic equilibrium in the deuterium dilution technique, *Eur. J. Clin. Nutr.* **61** (2007) 1250–1255.
- [23] VAN MARKEN LICHTENBELT, W.D., WESTERTERP, K.R., WOUTERS, L., Deuterium dilution as a method to determine total body water: effect of test protocol and sampling time, *Br. J. Nutr.* **72** (1994) 491–497.
- [24] SLATER, C., PRESTON, T., WEAVER, L.T., Stable isotopes and the international system of units, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **15** 15 (2001) 1270–1273.
- [25] BLAND, J.M., ALTMAN, D.G., Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement, *Lancet* **1** (1986) 307–310.
- [26] SLATER, C., PRESTON, T., A simple prediction of total body water to aid quality control in isotope dilution studies in subjects from 3–87 years of age, *Isot. Environ. Health Stud.* **41** 2 (2005) 99–107.
- [27] JONES, P.J., LEATHERDALE, S.T., Stable isotopes in clinical research: safety reaffirmed, *Clin. Sci.* **80** (1991) 277–280.

AUTRES OUVRAGES À CONSULTER

COPLEN, T.B., New guidelines for reporting stable hydrogen, carbon, and oxygen isotoperatio data, *Geochim. Cosmochim. Acta* **60** 9 (1996) 3359–3360.

FULLER, N.J., JEBB, S.A., LASKEY, M.A., COWARD, W.A., ELIA, M., Four compartment model for the assessment of body composition in humans: comparison with alternative methods, and evaluation of the density and hydration of fat-free mass, *Clin. Sci.* **82** 6 (1992) 687–693.

GIBSON, R.S., *Principles of Nutrition Assessment*, 2nd edn, Oxford University Press, New York (2005).

HALLIDAY, D., MILLER, A.G., Precise measurement of total body water using trace quantities of deuterium oxide, *Biomed. Mass Spectrom.* **4** 2 (1977) 82–87.

HEYMSFIELD, S.B., LOHMAN, T.G., WANG, Z.M., GOING, S.B. (Eds), *Human Body Composition*, 2nd edn, Human Kinetics, Champaign, IL (2005).

KOLETZKO, B., SAUERWALD, T., DEMMELMAIR, H., Safety of stable isotope use, *Eur. J. Pediatr.* **156** Suppl. 1 (1997) S12–S17.

RAMÍREZ, E., et al., Four compartment model and validation of deuterium dilution techniques to estimate fat-free mass in Mexican youth, *Nutrition* **25** (2009) 194–199.

SCHOELLER, D.A., et al., Total body water measurement in humans with ^{18}O and ^2H labeled water, *Am. J. Clin. Nutr.* **33** (1980) 2686–2693.

SCHOELLER, D.A., JONES, P.J.H., “Measurement of total body water by isotope dilution: a unified approach to calculations”, In *Vivo Body Composition Studies* (ELLIS, K.J., YASUMURA, S., MORGAN, W.D., Eds), Institute of Physical Sciences in Medicine, London (1987) 131–137.

SCRIMGEOUR, C.M., ROLLO, M.M., MUDAMBO, S.M.K.T., HANDLEY, L.L., PROSSER, S.J., A simplified method for deuterium/hydrogen isotope ratio measurements on water samples of biological origin, *Biol. Mass Spectrom.* **22** 7 (1993) 383–387.

SNYDER, W.S., et al., *Report of the task group on Reference Man*, Pergamon Press, Oxford (1984).

VAN RAAIJ, J.M., et al., New equations for estimating body fat mass in pregnancy from body density or total body water, *Am. J. Clin. Nutr.* **48** (1998) 24–29.

WELLS, J.C., et al., Prediction of total body water in infants and children, *Arch. Dis. Child.* **90** (2005) 965–971.

WELLS, J.C.K., STRICKLAND, S.S., Measurement of nutritional status using conventional anthropometry and D_2O in Sarawak, Malaysia, *Eur. J. Clin. Nutr.* **50** (1996) 668–671.

WESTERTERP, K.R., Body composition, water turnover and energy turnover assessment with labelled water, *Proc. Nutr. Soc.* **58** (1999) 945–951.

PERSONNES AYANT COLLABORÉ À LA RÉDACTION ET À L'EXAMEN

Bluck, L.	Conseil de la recherche médicale, Recherche sur la nutrition humaine (Royaume-Uni)
Davidsson, L.	Agence internationale de l'énergie atomique
Good, S.	Institut fédéral suisse de technologie (Suisse)
Haskell, M.	Université de Californie à Davis (États-Unis d'Amérique)
Hills, A.P.	Université de technologie du Queensland (Australie)
Hunt, J.	Agence internationale de l'énergie atomique
Kurpad, A.V.	Académie nationale St. John des sciences de la santé (Inde)
Mokhtar, N.	Université Ibn Tofail (Maroc)
Mosetlha, K.	Centre national de recherche sur la technologie alimentaire (Botswana)
Preston, T.	Centre de recherche environnementale des universités écossaises (Royaume-Uni)
Salazar, G.	Université du Chili (Chili)
Schoeller, D.	Université du Wisconsin, Madison (États-Unis d'Amérique)
Slater, C.*	Consultant privé (Royaume-Uni)
Valencia Juillerat, M.	Université du Sonora (Mexique)
Wells, J.C.	Institut de la santé infantile (Royaume-Uni)

* Adresse actuelle : Division de la santé humaine, Agence internationale de l'énergie atomique, B.P. 100, Centre international de Vienne, 1400 Vienne, Autriche.



IAEA

Agence internationale de l'énergie atomique

N° 23

OÙ COMMANDER ?

Dans les pays suivants, vous pouvez vous procurer les publications de l'AIEA disponibles à la vente chez nos dépositaires ci-dessous ou dans les grandes librairies.

Les publications non destinées à la vente doivent être commandées directement à l'AIEA. Les coordonnées figurent à la fin de la liste ci-dessous.

ALLEMAGNE

Goethe Buchhandlung Teubig GmbH

Schweitzer Fachinformationen

Willstaetterstrasse 15, 40549 Düsseldorf, ALLEMAGNE

Téléphone : +49 (0) 211 49 8740 • Fax : +49 (0) 211 49

Courriel : s.dehaan@schweitzer-online.de • Site web : <http://www.goethebuch.de/>

AUSTRALIE

DA Information Services

648 Whitehorse Road, Mitcham, VIC 3132, AUSTRALIE

Téléphone : +61 3 9210 7777 • Fax : +61 3 9210 7788

Courriel : books@dadirect.com.au • Site web : <http://www.dadirect.com.au>

BELGIQUE

Jean de Lannoy

Avenue du Roi 202, 1190 Bruxelles, BELGIQUE

Téléphone : +32 2 5384 308 • Fax : +32 2 5380 841

Courriel : jean.de.lannoy@euronet.be • Site web : <http://www.jean-de-lannoy.be>

CANADA

Renouf Publishing Co. Ltd.

Téléphone : +1 613 745 2665 • Fax : +1 643 745 7660

5369 Canotek Road, Ottawa, ON K1J 9J3, CANADA

Courriel : order@renoufbooks.com • Site web : <http://www.renoufbooks.com>

Bernan Associates

4501 Forbes Blvd., Suite 200, Lanham, MD 20706-4391, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Téléphone : +1 800 865 3457 • Fax : +1 800 865 3450

Courriel : orders@bernan.com • Site web : <http://www.bernan.com>

ESPAGNE

Díaz de Santos, S.A.

Librerías Bookshop • Departamento de pedidos

Calle Albasanz 2, esquina Hermanos Garcia Noblejas 21, 28037 Madrid, ESPAGNE

Téléphone : +34 917 43 48 90

Courriel : compras@diazdesantos.es • Site web : <http://www.diazdesantos.es/>

ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Bernan Associates

4501 Forbes Blvd., Suite 200, Lanham, MD 20706-4391, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Téléphone : +1 800 865 3457 • Fax : +1 800 865 3450

Courriel : orders@bernan.com • Site web : <http://www.bernan.com>

Renouf Publishing Co. Ltd.

812 Proctor Avenue, Ogdensburg, NY 13669, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Téléphone : +800 551 7470 (numéro vert) • +800 568 8546 (numéro vert)

Courriel : orders@renoufbooks.com • Site web : <http://www.renoufbooks.com>

FINLANDE

Akateeminen Kirjakauppa

PO Box 128 (Keskuskatu 1), 00101 Helsinki, FINLANDE

Téléphone : +358 9 121 41 • Fax : +358 9 121 4450

Courriel : akatilaus@akateeminen.com • Site web : <http://www.akateeminen.com>

FRANCE

Form-Edit

5, rue Janssen, B.P. 25, 75921 Paris CEDEX, FRANCE

Téléphone : +33 1 42 01 49 49 • Fax : +33 1 42 01 90 90

Courriel : fabien.boucard@formedit.fr • Site web : <http://www.formedit.fr>

Lavoisier SAS

14, rue de Provigny, 94236 Cachan CEDEX, FRANCE

Téléphone : +33 1 47 40 67 00 • Fax : +33 1 47 40 67 02

Courriel : livres@lavoisier.fr • Site web : <http://www.lavoisier.fr>

L'Appel du livre

99, rue de Charonne, 75011 Paris, FRANCE

Téléphone : +33 1 43 07 50 80 • Fax : +33 1 43 07 50 80

Courriel : livres@appeldulivre.fr • Site web : <http://www.appeldulivre.fr>

HONGRIE

Librotade Ltd., Book Import

PF 126, 1656 Budapest, HONGRIE

Téléphone : +36 1 257 7777 • Fax : +36 1 257 7472

Courriel : books@librotade.hu • Site web : <http://www.librotade.hu>

INDE

Allied Publishers Pvt. Ltd.

1st Floor, Dubash House, 15 J.N. Heredi Marg

Ballard Estate, Mumbai 400001, INDE

Téléphone : +91 22 42126969/31 • Fax : +91 22 2261 7928

Courriel : arjunsachdev@alliedpublishers.com • Site web : <http://www.alliedpublishers.com>

Bookwell

3/79 Nirankari, Dehli 110009, INDE

Téléphone : +91 11 2760 1283 • +91 11 27604536

Courriel : bkwell@nde.vsnl.net.in • Site web : <http://www.bookwellindia.com/>

ITALIE

Libreria Scientifica "AEIOU"

Via Vincenzo Maria Coronelli 6, 20146 Milan, ITALIE

Téléphone : +39 02 48 95 45 52 • Fax : +39 02 48 95 45 48

Courriel : info@libreriaaeiou.eu • Site web : <http://www.libreriaaeiou.eu/>

JAPON

Maruzen Co., Ltd.

1-9-18 Kaigan, Minato-ku, Tokyo 105-0022, JAPON

Téléphone : +81 3 6367 6047 • Fax : +81 3 6367 6160

Courriel : journal@maruzen.co.jp • Site web : <http://maruzen.co.jp>

PAYS-BAS

Martinus Nijhoff International

Koraalrood 50, Postbus 1853, 2700 CZ Zoetermeer, PAYS-BAS

Téléphone : +31 793 684 400 • Fax : +31 793 615 698

Courriel : info@nijhoff.nl • Site web : <http://www.nijhoff.nl>

Swets

PO Box 26, 2300 AA Leiden

Dellaertweg 9b, 2316 WZ Leiden, PAYS-BAS

Téléphone : +31 88 4679 263 • Fax : +31 88 4679 388

Courriel : tbeysens@nl.swets.com • Site web : www.swets.com

RÉPUBLIQUE TCHÈQUE

Suweco CZ, spol. S.r.o.

Klecakova 347, 180 21 Prague 9, RÉPUBLIQUE TCHÈQUE

Téléphone : +420242 459 202 • Fax : +420 242 459 203

Courriel : nakup@suweco.cz • Site web : <http://www.suweco.cz>

ROYAUME-UNI

The Stationery Office Ltd. (TSO)

PO Box 29, Norwich, Norfolk, NR3 1PD, ROYAUME-UNI

Téléphone : +44 870 600 5552

Courriel (commandes) : books.orders@tso.co.uk • (renseignements) : book.enquiries@tso.co.uk •

Site web : <http://www.tso.co.uk>

Commandes en ligne :

DELTA International Ltd.

39, Alexandra Road, Addlestone, Surrey, KT15 2PQ, ROYAUME-UNI

Courriel : info@profbooks.com • Site web : <http://www.profbooks.com>

SLOVÉNIE

Cankarjeva Založba dd

Kopitarjeva 2, 1515 Ljubljana, SLOVÉNIE

Téléphone : +386 1 432 31 44 • Fax : +386 1 230 14 35

Courriel : import.books@cankarjeva-z.si • Site web : http://www.mladinska.com/cankarjeva_zalozba

NATIONS UNIES (ONU)

300 East 42nd Street, IN-919J, New York, NY 1001, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Téléphone : +1 212 963 8302 • Fax : +1 212 963 3489

Courriel : publications@un.org • Site web : <http://www.unp.un.org>

Les commandes de publications destinées ou non à la vente peuvent être adressées directement à :

Section d'édition de l'AIEA, Unité de la promotion et de la vente,

Agence internationale de l'énergie atomique,

Centre international de Vienne, B.P. 100, 1400 Vienne (Autriche)

Téléphone : +43 1 2600 22529 (ou 22488) • Fax : +43 1 2600 29302

Courriel : sales.publications@iaea.org • Site web : <http://www.iaea.org/books>

Depuis de nombreuses années, l'AIEA promeut une utilisation plus large des techniques qui reposent sur des isotopes stables pour évaluer la composition corporelle dans différents groupes de population afin de traiter des questions prioritaires de nutrition qui relèvent de la santé publique dans les États Membres. La présente publication a été réalisée par un groupe international d'experts dans le but de fournir des indications pratiques sur l'application de la technique de l'enrichissement en deutérium lorsque l'analyse de rapports d'isotopes stables dans des échantillons biologiques doit être effectuée par spectrométrie de masse isotopique. Elle intéresse spécifiquement les nouveaux utilisateurs de cette méthode, par exemple des nutritionnistes, des chimistes analystes ou d'autres professionnels.

COLLECTION SANTÉ HUMAINE DE L'AIEA

AGENCE INTERNATIONALE DE L'ÉNERGIE ATOMIQUE
VIENNE

ISBN 978-92-0-214113-1

ISSN 2075-3772