

Recommandations concernant l'analyse des acides organiques urinaires

Recommendations for urinary organic acids analysis

Laetitia Van Noolen¹
Cécile Acquaviva-Bourdain²
Anne-Frédérique Dessein³
Régine Minet-Quinard⁴
Marie Nowoczyn⁵
Roselyne Garnotel⁶
Christelle Corne¹
Groupe des biologistes
de la Société française
pour l'étude des erreurs
innées du métabolisme (SFEIM)

¹ Laboratoire des maladies héréditaires du métabolisme, Service de biochimie, biologie moléculaire et toxicologie environnementale, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France

² Service de biochimie et biologie moléculaire Grand Est – UM Pathologies métaboliques, érythrocytaires et dépistage périnatal, Centre de biologie Est, Hospices civils de Lyon, Bron, France

³ UF Métabolisme général et maladies rares, Centre de biologie pathologie génétique, CHU Lille, Lille, France

⁴ Service de biochimie et génétique moléculaire, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

⁵ Laboratoire de biochimie, CHU Caen, Caen, France

⁶ Laboratoire de biochimie-pharmacologie-toxicologie, Pôle de biologie territoriale, CHU Reims, Reims, France

Article reçu le 26 juin 2020,
accepté le 04 août 2020

Résumé. Le diagnostic biochimique des maladies héréditaires du métabolisme nécessite la détection et l'identification simultanées d'un grand nombre de composés d'où l'intérêt des profils métaboliques. La chromatographie des acides organiques permet l'identification de plusieurs centaines de composés et la quantification des principales molécules d'intérêt. Dans le cadre du processus d'accréditation des examens de biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189, le groupe issu de la Société française pour l'étude des erreurs innées du métabolisme (SFEIM) recommande une démarche pour l'accréditation de la chromatographie des acides organiques. Les paramètres de validation et des recommandations sont discutés dans ce cadre spécifique.

Mots clés : chromatographie des acides organiques, accréditation, norme, ISO 15189

Abstract. Biochemical diagnosis of hereditary metabolic diseases requires the detection and simultaneous identification of a large number of compounds, hence the interest in metabolic profiles. Organic acid chromatography allows the identification of several hundred compounds and the quantification of the main molecules of interest. As part of the accreditation process for medical biology examinations according to standard NF EN ISO 15189, the group from the French society for inborn errors of metabolism (SFEIM) recommends an approach to accredit organic acid chromatography. Validation parameters and recommendations are discussed in this specific framework.

Key words: organic acids chromatography, accreditation, ISO standard, ISO 15189

Les aciduries organiques font partie des maladies héréditaires du métabolisme qui sont souvent des maladies sévères pouvant, en cas de décompensation métabolique, conduire au décès brutal des patients. Ces pathologies

peuvent se révéler à tout âge, les formes les plus graves s'exprimant en période néonatale. Le profil des acides organiques urinaires est une analyse qualitative comportant une approche quantitative ou semi-quantitative pour certaines molécules. Elle est utile à l'exploration du métabolisme intermédiaire, chez les nouveau-nés, les enfants et les adultes [1].

Correspondance : L. Van Noolen
<lvannoolen@chu-grenoble.fr>

Le principe méthodologique est celui de la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse [2] permettant d'identifier les acides carboxyliques préalablement extraits de l'urine du patient.

Les principales indications sont :

- le diagnostic et l'orientation étiologique de certaines maladies métaboliques ;
- le suivi de patients déjà diagnostiqués ;
- les investigations familiales autour d'un cas index.

Étape pré-analytique

Nature du prélèvement

L'analyse est réalisée à partir d'un échantillon d'urine (dans certains contextes ou indications, l'analyse est exceptionnellement réalisable dans le plasma, le liquide céphalo-rachidien ou le liquide amniotique, mais ces prélèvements ne seront pas envisagés ici).

Conditions du prélèvement

L'urine (volume minimal compris entre 1 et 2 mL) doit être conditionnée dans un contenant plastique sans conservateur ni acide. Le recueil des urines de 24 heures n'est pas approprié pour cette analyse. Comme pour toutes les investigations du métabolisme intermédiaire, il est préférable de prélever l'urine en phase aiguë ou lors de la première miction du matin car les métabolites d'intérêt s'y trouvent en plus forte concentration.

Acheminement – Délai – Prise en charge au laboratoire - Conservation

L'acheminement doit être organisé le plus rapidement possible, de préférence à l'état congelé si le délai est supérieur à 24 heures. Cette conservation doit se faire sans agents conservateurs qui risquent d'entraîner des interférences analytiques.

Le groupe de travail recommande [3] :

Température	Durée de conservation
Ambiante	6 heures
2-8 °C	24 heures
-20 °C ou -80 °C	6 mois ou plus [4]

En cas de prélèvement précieux, l'analyse sur un échantillon non conservé dans les conditions préconisées reste envisageable tout en précisant dans le commentaire que l'analyse a été réalisée de façon dérogatoire car les conditions de conservation pré-analytique du prélèvement ne sont pas conformes aux recommandations.

La réalisation d'une bandelette urinaire (au minimum pH, nitrites, corps cétoniques) doit être systématique ; la pré-

Encadré 1

Recommandations pré-analytiques

Prélèvement/recueil : en phase aiguë ou lors de la première miction du matin ou à défaut, une miction au hasard.

Non préconisé sur recueil de 24 heures.

Contenant : contenant plastique sans conservateur ni acide.

Volume minimum : 1 à 2 mL en fonction des contraintes analytiques de chaque laboratoire.

Acheminement : si délai inférieur à 6 heures : température ambiante ; si délai supérieur à 24 heures : -20°C.

Prise en charge au laboratoire : réalisation d'une bandelette systématique.

Conservation avant analyse : -20 °C

sence de nitrites ou d'un pH élevé étant en faveur d'une contamination bactérienne de l'urine : le résultat sera alors rendu avec notification si nécessaire de la présence d'acides organiques secondaires à la contamination bactérienne pouvant perturber le profil (*Encadré 1*).

Étape analytique

Principe général (*Encadré 2*)

L'objectif est de séparer puis d'identifier des petites molécules organiques (masse moléculaire inférieure à 300 g/mol ou 300 daltons), hydrosolubles. Plus de 250 molécules peuvent être présentes dans un échantillon urinaire.

Modalités pratiques

Préparation de l'échantillon

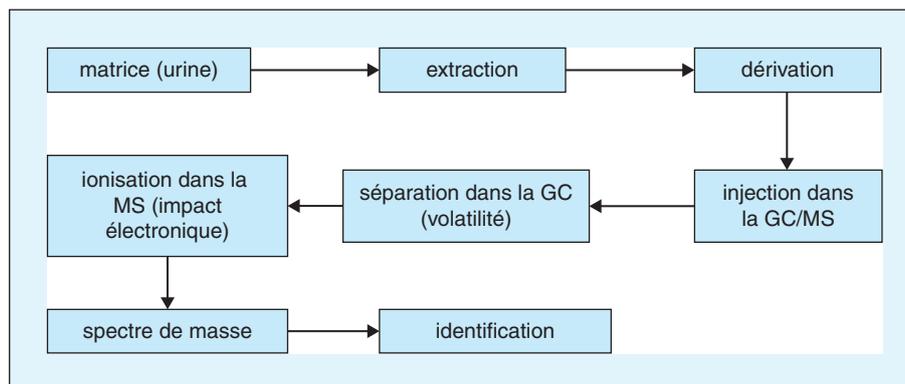
La prise d'essai recommandée est celle correspondant à 1 µmol de créatinine. Ceci permet de standardiser les conditions d'extraction d'un échantillon à l'autre. La prise d'essai d'urine ne doit pas être diluée au plus de 1/5°.

Il est ensuite nécessaire de compléter le volume avec une solution salée isotonique si le volume est inférieur à 1 mL ou 2 mL (selon le protocole interne du laboratoire). En cas d'échantillon précieux en volume insuffisant, il est possible de réaliser l'extraction, l'interprétation du profil sera alors nuancée dans le compte-rendu.

Le groupe de travail recommande d'ajouter au minimum 2 étalons internes : un en début de chromatographie (exemple : acide méthylmalonique deutéré, acide 4-phénylbutyrique, acide 2-phénylbutyrique...), et un autre en fin (exemple : heptadécanoate, docosane...). L'heptanoylglycine peut être utilisée comme troisième éta-

Encadré 2

Principes analytiques de la chromatographie des acides organiques urinaires [10]



Ion interne pour vérifier la bonne extraction et dérivaison des dérivés acylglycine.

Uréase et oximation

L'étape de traitement des urines par l'uréase est facultative mais elle peut être utile en cas de suspicion de déficit en succinate semi-aldéhyde déshydrogénase (recherche de l'acide 4-hydroxybutyrique).

L'étape d'oximation (qui permet de stabiliser les alphacétoacides) est également facultative et est réalisée avec de l'hydroxylamine. Elle reste cependant fortement recommandée en cas de suspicion de tyrosinémie type I ou de leucinose intermittente. Il est possible de rajouter un contrôle de cette oximation (exemple : acide 2-oxocaproïque).

Acidification et extraction

L'étape d'acidification des urines est indispensable (après les étapes d'uréase et d'oximation si celles-ci sont réalisées).

Les étapes d'extraction liquide/liquide (acétate d'éthyle, diéthyléther...) sont au nombre de 3 minimum (lors de la recherche d'acide glycérique il en faut 5) et sont suivies d'une évaporation à sec à une température inférieure à 40 °C.

Dérivatisation

La dérivation est essentielle afin d'une part, de rendre les acides organiques volatils et, d'autre part, de permettre la rétention des composés lors de l'analyse en chromatographie gazeuse. La formation de dérivés triméthylsilyl est la plus utilisée et recommandée, elle utilise le N,O-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide/triméthylchlorosilane (BSTFA/TMCS) en milieu anhydre (pyridine, chloroforme ou acétonitrile). Le BSTFA permet l'estérification des groupements carboxyles, hydroxyles, amines, thiols et phénoliques des acides organiques.

Chromatographie gazeuse/Spectrométrie de masse (GC/MS)

Après l'étape de séparation chromatographique, les composés sont identifiés par un spectromètre de masse, le plus souvent de type quadripôle. On obtient un spectre de fragmentation par impact électronique (70 eV) de chacun des composés élués (analyse en mode scan) ; les données se présentent sous la forme d'un *total ion chromatogram* (TIC). Le spectre de masse couplé au temps de rétention permet l'identification fiable des molécules. Chaque laboratoire devra être particulièrement vigilant à la mise à jour de sa bibliothèque de référence de spectres de masse.

Étalonnage et quantification

Le groupe de travail recommande la quantification systématique de 13 acides organiques (AO), ainsi que la quantification optionnelle de 23 AO [3] (*tableau 1*).

Quantification par étalonnage externe

Si ce mode de quantification est choisi, le groupe de travail recommande de réaliser, au minimum une fois par an, une gamme d'étalonnage externe comportant les molécules à quantifier à au moins 3 concentrations différentes, dans une matrice urinaire (200 µL d'urine témoin complétée à 1 mL avec les solutions étalons) (*tableau 1*).

Dans la mesure du possible, il est recommandé d'utiliser des mélanges d'acides organiques commercialisés pour la fabrication de gammes (Exemples : Organic acid mixtures/Ten Brink ; EEQ ERNDIM (QTOU, SAU) de l'année précédente...).

Cette gamme est enregistrée sur l'appareil et sert à la quantification des molécules d'intérêt lors de chaque analyse. Deux paramètres sont utiles au paramétrage du logiciel de quantification : le temps de rétention et le rapport m/z d'un ion spécifique.

Tableau 1. Liste des acides organiques à quantifier systématiquement et si besoin [3].

En systématique	Si besoin
Lactique	Malonique
Glycolique	4-hydroxybutyrique
3-hydroxybutyrique	Méthylsuccinique
3-hydroxypropionique	Glycérique
3-hydroxyisovalérique	3-méthylglutarique
Méthylmalonique	3-méthylglutaconique
Ethylmalonique	Malique
Fumarique	Pyroglutamique
Glutarique	3-hydroxyglutarique
Adipique	3-hydroxy-3-méthylglutarique
2-hydroxyglutarique	2-cétoglutarique
Subérique	N-acétylaspartique
Sébacique	Méthylcitrique
	Homogentisique
	Mévalonique
	Propionylglycine
	Butyrylglycine
	2-méthylbutyrylglycine
	Isovalérylglycine
	3-méthylcrotonylglycine
	Tiglylglycine
	Hexanoylglycine
	Subérylglycine

Quantification par étalonnage interne

Avec cette approche, des molécules d'étalons internes supplémentaires (exemple : isotopes stables) sont ajoutées à l'échantillon en concentrations connues de manière à permettre une détermination quantitative de certains acides organiques.

Les modalités de quantification sont laissées à l'appréciation du laboratoire.

Performances de la méthode

La validation de méthode du profil des acides organiques urinaires doit se faire selon les préconisations de la norme NF EN ISO 15189. Il s'agit d'un examen de biologie médicale (EBM) entrant dans la ligne de portée BM BB02. La validation de méthode se fait en portée B. L'approche processus (simple ou complexe) est laissée à l'appréciation du laboratoire. Nous développerons dans ce paragraphe l'évaluation des performances selon deux approches : quantitative et qualitative.

La norme [5] demande de déterminer des critères de performance pertinents (préalablement à l'étude expérimentale) mais leurs limites d'acceptabilité sont difficiles à établir dans le contexte de l'analyse des AO urinaires car les données de la littérature sont très pauvres. Chaque laboratoire pourra donc s'appuyer sur les recommandations de

ce groupe de travail ainsi que sur les recommandations européennes [6] et américaines [7].

Le chapitre concernant la maîtrise des risques ne comporte pas de particularité. Chaque laboratoire devra utiliser les échelles de criticité proposées de manière transversale par son référent Assurance Qualité (fréquence, gravité et détectabilité).

Ces données doivent figurer dans le dossier de validation de méthode. Les critères à évaluer sont listés ci-dessous.

Approche quantitative

Évaluation de la répétabilité

Le groupe de travail recommande :

- 8 extractions (même technicien, même jour) ;
- 2 niveaux de concentration.

Il est préconisé un coefficient de variation (CV) inférieur à 15 % [8].

Évaluation de la fidélité intermédiaire

Le groupe de travail recommande :

- 8 extractions à des jours différents par des techniciens pouvant être différents ;
- 2 niveaux de concentration.

Il est préconisé un CV inférieur à 15 % (ou 20 % si résultat proche de la limite inférieure de quantification) [8].

Évaluation de variabilité inter-opérateurs

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer la variabilité des résultats entre les membres de l'équipe technique (comparaison des CV obtenus pour chaque opérateur, méthode Anova, suivi des CV des contrôles internes de qualité (CIQ) au cours du temps. . .).

Concernant la chromatographie des AO, elle peut être évaluée par le suivi des CIQ et l'obtention de résultats conformes quels que soient les opérateurs.

Évaluation de la justesse

L'évaluation de la justesse est non applicable en l'absence de CIQ externalisés.

Évaluation de l'exactitude

Cette évaluation est possible pour les molécules disposant d'une évaluation externe de la qualité (EEQ) et selon les méthodes proposées par le Cofrac.

Évaluation de la spécificité

Cette approche est non applicable pour la spécificité analytique car il s'agit d'une méthode de référence pour l'identification spécifique des molécules avec prise en compte du temps de rétention de la molécule (dans la chromatographie gazeuse), ainsi que de son ion spécifique (au niveau de la spectrométrie de masse).

Évaluation de l'incertitude de mesure

Le calcul des incertitudes de mesure (IM) est peu informatif (car très variable d'un AO à l'autre) pour cet examen dans la mesure où il est, dans la plupart des cas, sans impact clinique sur l'interprétation globale du profil. Dans la littérature, il existe peu de données concernant ces IM. Le groupe de travail recommande à chaque laboratoire de surveiller l'évolution de cet indicateur plutôt que de le comparer à un objectif.

Évaluation de l'intervalle de mesure

La limite de détection peut se déterminer avec l'analyse de 8 extractions d'un échantillon de NaCl. Elle sera égale à 3 fois l'écart-type des rapports signal/bruit obtenus pour chaque acide organique.

La limite de quantification peut être déterminée de différentes manières : elle peut être calculée à partir des 8 injections précédentes et sera égale à 10 fois l'écart-type des rapports signal/bruit obtenus, ou peut correspondre au plus faible point de la gamme de calibration pour lequel la concentration calculée pourra s'exprimer avec une fidélité (CV%) inférieure à 20 %.

La limite supérieure de linéarité sera définie comme étant égale au dernier point de la gamme de calibration qui présente une fidélité intermédiaire (CV) et un biais inférieurs à 20 %.

Évaluation des interférences

L'association du temps de rétention et de la détection par spectrométrie de masse permet de visualiser les spectres de masse des composés connus. Grâce à l'impact électronique, les spectres de fragmentation sont constants et sont des critères de référence d'identification des composés. Il existe de plus des outils bio-informatiques de comparaison des spectres fournis avec le logiciel de la GC/MS. De ce fait, l'évaluation des interférences n'est pas applicable dans ce contexte.

Évaluation de la contamination inter-échantillons

La procédure de rinçage de la seringue d'injection paramétrée sur l'injecteur automatique est fondamentale et permet d'éviter ce risque de contamination.

Il faut garder en mémoire le risque de contamination en cas d'excrétion massive d'un composé dans une urine et recommander la réinjection du ou des prélèvements suivants ou d'un blanc BSTFA pour s'assurer de l'absence de pics résiduels identifiés.

Il est toutefois possible d'évaluer la contamination inter-échantillons sur les molécules qui sont quantifiées systématiquement par le laboratoire en injectant 3 échantillons de concentrations élevés (H1, H2 et H3) puis 3 injections successives de blancs (B1, B2 et B3).

Le calcul de la contamination est le suivant : $(B1-B3)/(mH-B3) \times 100$ ($m = moyenne$).

Le pourcentage de contamination sera acceptable s'il est inférieur au CV de répétabilité de la technique.

Évaluation de la stabilité des réactifs

Les préparations de tous les réactifs doivent être tracées (qui a fait les pesées et quand).

La vérification de stabilité des réactifs « maison » s'impose pour tout laboratoire, le suivi des CIQ au cours du temps peut être utilisé pour cela.

Intervalles de référence

Le groupe de travail a défini des seuils d'alerte en mmol/mol de créatinine. Ils sont détaillés dans le paragraphe post-analytique.

Concernant l'évaluation des performances de la méthode, en cas d'ajout d'une nouvelle molécule quantifiée dans la gamme, le groupe de travail préconise l'ajout de l'ensemble des critères évalués pour cette molécule dans le SH-FORM 43 proposé par le Cofrac (*Encadré 3*).

Approche qualitative

Cette analyse est complémentaire de la précédente ; elle est indispensable pour le profil d'acides organiques urinaires car tous les composés détectés ne sont pas quantifiés. Dans cette évaluation, certains paramètres du formulaire ne peuvent pas être évalués car il s'agit d'une approche qualitative : répétabilité, fidélité intermédiaire, justesse, incertitude de mesure, étendue de mesure. D'autres paramètres présentent les mêmes critères d'évaluation que pour l'approche quantitative : spécificité analytique, interférences, contamination inter-échantillons, stabilité des réactifs. Enfin, quelques paramètres peuvent bénéficier d'une évaluation spécifique et sont listés ci-dessous.

Évaluation de variabilité inter-opérateurs (biologistes)

La variabilité inter-opérateur des biologistes peut être évaluée sur la lecture de profils chromatographiques différents (issus des programmes d'EEQ par exemple). Les commentaires rapportés par les différents opérateurs sont alors comparés.

Évaluation de l'exactitude

Cette évaluation est réalisée à partir des programmes d'EEQ qualitatifs, le laboratoire détermine si la conclusion apportée pour chaque EEQ est conforme au résultat attendu.

Évaluation qualité et suivi des performances

Conseils pour la gestion des CIQ

Des contrôles quantitatifs sont commercialisés par MCA Laboratory (Queen Beatrix Hospital – Beatrixpark 1 – 7101 BN Winterswijk – The Netherlands).

La notion de série est à définir par chaque laboratoire en fonction de son nombre d'analyses. De même, chaque

Encadré 3

Recommandations pour la validation de méthode (approches qualitative et quantitative)

La validation de méthode sera réalisée en portée B.

	Méthode d'évaluation	Objectifs
Répétabilité	2 échantillons de concentrations différentes 8 extractions/échantillon/1 série	CV < 15 %
Fidélité intermédiaire	2 échantillons de concentrations différentes 1 extraction/échantillon/8 séries	CV < 15 % (20 % valeurs basses)
Variabilité inter-opérateurs	Quantitatif : suivi des CIQ Qualitatif : comparaison des conclusions apportées par différents opérateurs (biologistes) sur un même profil	/
Justesse	NA	/
Exactitude	Exploitation des EEQ (qualitatif et quantitatif)	/
Spécificité analytique	NA	/
Incertitude de mesure	Calcul peu informatif, suivre l'évolution de l'indicateur	/
Limite détection	8 extractions de NaCl. LOD = 3xET rapport S/B	/
Limite quantification	8 extractions de NaCl. LOQ = 10xET rapport S/B OU plus faible point de la gamme de calibration pour lequel la concentration calculée pourra s'exprimer avec un CV < 20 %	/
Limite supérieure de linéarité	Dernier point de gamme de calibration	Adapté aux besoins cliniques Fidélité intermédiaire et biais < 20 %
Contamination inter-échantillons	1 séquence = injection de 3 échantillons de concentration élevée suivis de 3 échantillons de concentration faible	% contamination < CV répétabilité
Stabilité des réactifs	Suivi a posteriori des CIQ	/
Interférences	NA	/

ET : écart-type, LOD : limite de détection, LOQ : limite de quantification, S/B : signal/bruit, NA : non applicable.

laboratoire doit définir sa stratégie de gestion des CIQ (fréquence, niveaux, bornes d'acceptabilité. . .). Le laboratoire établit ses propres règles ou choisit des règles de Westgard pour la gestion des CIQ.

Conseils pour la gestion des EEQ

Deux types de contrôles sont disponibles auprès de l'ERNDIM (European research network for the evaluation and improvement of screening, diagnosis and treatment of inherited disorders of metabolism) et sont indispensables pour tous les laboratoires réalisant des acides organiques.

Quantitative organic acids (QTOU)

Les EEQ quantitatifs sont au nombre de 8 par an et sont visibles sur le site ERNDIMqa.nl sous forme de rapport annuel, rapport mensuel et rapport détaillé par analyte. L'organisation ERNDIM fournit un bilan annuel à chaque laboratoire.

Qualitative organic acids in urine (QLOU)

Neuf échantillons sont distribués chaque année afin de réaliser une étude qualitative. La réponse attendue est un diagnostic. Ces EEQ qualitatifs peuvent être utilisés par les biologistes en interne dans chaque laboratoire pour les interpréter séparément et vérifier la concordance de leur réponse.

Comme pour tous les EEQ, les résultats de ces contrôles doivent être visés par un biologiste responsable et toute anomalie doit faire l'objet de l'enregistrement d'une non-conformité et mise en place d'une action corrective si besoin.

Suivi des performances

Chaque laboratoire définira ses indicateurs pour le suivi des performances de la méthode.

Quelques suggestions : suivi de la surface des étalons internes, pourcentage de CIQ rejetés, suivi de la fidélité intermédiaire, analyse de la conformité des EEQ, délai moyen de rendu de résultats...

Étape post analytique

Délai de rendu

Le groupe de travail précise que toute urgence motivée par un médecin métabolicien doit être rendue en 48-72 heures maximum.

Indépendamment de l'urgence, le délai proposé est de 30 jours maximum.

Modalités de rendu

Le profil des acides organiques s'interprète de façon globale, après identification systématique de tous les composés et quantification de certaines molécules. Tout compte rendu doit être accompagné d'un commentaire formulé par un biologiste habilité.

Approche qualitative

L'analyse doit être réalisée en mode full scan, l'identification des métabolites reposant sur l'association de leur temps de rétention et de leur spectre de masse par comparaison à celui d'une bibliothèque de spectres (personnelle ou commerciale).

Certains métabolites, pathognomoniques de certaines pathologies, sont cependant excrétés en faible quantité et doivent être recherchés systématiquement en mode

Tableau 2. Liste des acides organiques à rechercher systématiquement lors de la lecture d'un profil [3].

Acide organique	Ions spécifiques
4-hydroxybutyrique	204 ; 233
Octanoïque	201
Mévalonolactone	115 ; 187
Succinylacétone	212
2-hydroxy et 3-hydroxyglutarique	129/185 ; 259
Orotique	254 ; 357
Acyglycines	104 ; 158 ; 172 ; 360
Vanillactique	209

« extract ion ». Ces molécules sont listées dans le *tableau 2* et leur identification formelle doit être rigoureuse.

Pour les composés non quantifiés, le résultat peut être rendu sous forme qualitative « présence de... », « importante excrétion de... ».

Approche quantitative

Pour certains métabolites, des seuils d'alerte ont été définis par le groupe de travail [3] et sont listés dans le *tableau 3* : ces seuils ciblent des molécules pour lesquelles une élévation de l'excrétion au-delà de ces valeurs doit attirer la vigilance du biologiste en charge du compte rendu.

Pour les autres acides organiques : se référer à la publication de Boulat *et al.* (2003) [9].

L'interprétation du profil et sa validation biologique nécessitent une coopération clinico-biologique afin de lier les résultats obtenus à l'étiologie des symptômes.

La conclusion apportée au clinicien sur le compte rendu est qualitative avec éventuellement quelques données quantitatives (*Encadré 4*).

Tableau 3. Seuils d'alertes urinaires en mmol/mol de créatinine pour les acides organiques quantifiés [3].

Acide organique	Seuil d'alerte (mmol/mol créat)	Seuil d'alerte particulier (mmol/mol créat)
Lactique	> 150	Naissance – 1 mois : > 300
3-hydroxyisovalérique	> 50	
Méthylmalonique	> 10	Naissance – 6 mois : > 20
Ethylmalonique	> 10	Naissance – 1 an : > 15
Méthylsuccinique	> 15	
Fumarique	> 10	Naissance – 1 mois : > 30
Glutarique	> 10	
Adipique	> 10	Naissance – 1 an : > 30
Pyroglutamique	> 200	
Tiglylglycine	> 10	
2-hydroxyglutarique	> 25	Naissance – 1 an : > 50
3-hydroxy-3-méthylglutarique	> 30	Naissance – 1 mois : > 150
Subérique	> 5	Naissance – 1 an : > 20
Sébacique	> 5	Naissance – 1 an : > 15

Encadré 4

Recommandations post-analytiques

Délai de rendu de résultats

- En contexte d'urgence : 48-72 heures suivant le prélèvement
- Hors contexte d'urgence : < 30 jours

Modalités de rendu de résultats

- Approche qualitative : lecture et identification des AO en mode « full scan », recherche en mode « extract ion » des AO excrétés en faible quantité et pathognomoniques de certaines pathologies
- Approche quantitative : existence de seuils d'alerte pour un certain nombre d'AO
- Conclusion qualitative avec éventuellement quelques données quantitatives
- Commentaire formulé par un biologiste habilité

Informations cliniques

Il est indispensable d'obtenir des renseignements cliniques, diététiques et thérapeutiques qui accompagnent le prélèvement. Le groupe de travail propose un formulaire disponible sur son site internet www.sfeim.org.

L'interprétation globale d'un profil nécessite la prise en compte de l'ensemble des anomalies observées en lien avec le contexte clinique et le reste du bilan étiologique.

Conservation post analytique

Le stockage des données brutes et des résultats doit répondre aux exigences de la réglementation. Il est recommandé de conserver les échantillons à -20 °C un mois après analyse.

Remerciements. Les auteurs remercient Jean-François Benoist, Hélène Blasco, Marie-Christine Denis et Chris Ottolenghi.

Lien d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

1. Garg U, Hammet-Stabler CA. Clinical applications of mass spectrometry. In : *Methods and protocols*. Totowa : Humana Press, 2010.
2. Fitch WL, Anderson PJ, Smith DH. Isolation, identification and quantitation of urinary organic acids. *J Chromatogr* 1979 ; 162 : 249-59.
3. Journées Biologie Qualité. Acides organiques. JBQ, 2012 www.sfeim.org.
4. Fernandez-Peralbo M, Luque de Castro M. Preparation of urine samples prior to targeted or untargeted metabolomics mass-spectrometry analysis. *Trends Analytical Chem* 2012 ; 41 : 75-85.
5. Norme NF EN ISO 15189. Exigences concernant la qualité et la compétence des laboratoires de biologie médicale. Décembre 2012.
6. European Medicines Agency (EMA). Guideline on bioanalytical method validation. EMA, 2011.
7. Gallagher RC, Pollard L, Scott AI, Huguenin S, Goodman S, Sun Q, *et al*. Laboratory analysis of organic acids, 2018 update: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2018 ; 20 : 683-91.
8. FDA. Guidance for industry, bioanalytical method validation, US. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Biopharmaceutics. FDA, May 2018.
9. Boulat O, Gradwohl M, Matos V, Guignard JP, Bachmann C. Organic acids in the second morning urine in a healthy Swiss paediatric population. *Clin Chem Lab Med* 2003 ; 41 : 1642-58.
10. Van Noolen L. *Quantification des acides organiques urinaires - Validation de méthode selon les exigences de la norme NF EN ISO 15189*, Mémoire de DIU Maladies héréditaires du métabolisme, 2016.