



Centre Hospitalier Régional  
Universitaire de Lille

# *Vers l'accréditation des acylcarnitines...*

A.F. Dessen (Lille) et M. Nowoczyn (Caen)

SFEIM – Journée qualité du 4 décembre 2017



# Point de départ...

- Quantification des acylcarnitines :
  - Volonté de vérifier les IR en usage dans nos deux laboratoires
  - Variations connues en lien avec l'âge (exemple du « profil nouveau-né »)
- Adaptation des IR selon l'âge ?
- Quelles tranches d'âge envisager ?

Travail de synthèse réalisé par M. Nowoczyn en 2016 (DIU MHM)

## Echantillon étudié

- Caen (2010 – 2015) : 719 buvards / 484 plasmas – 1203 prélèvements
- Lille (2008 – 2015) : 5200 buvards / 65 sérums – 5265 prélèvements

« Poids » différent des deux centres

# Dosage des ACN

## Matériel et méthodes

Lille

Caen

échantillon

Buvard – disque  
de 6 mm

Buvard – disque  
de 3 mm

extraction  
dérivation

Kit Chromsystems®

analyse

FIA-MS/MS  
Ionisation par électronébulisation en mode positif  
Recherche des ions précurseurs de l'ion fils  $m/z=85$

Quattro Premier  
(Waters®)

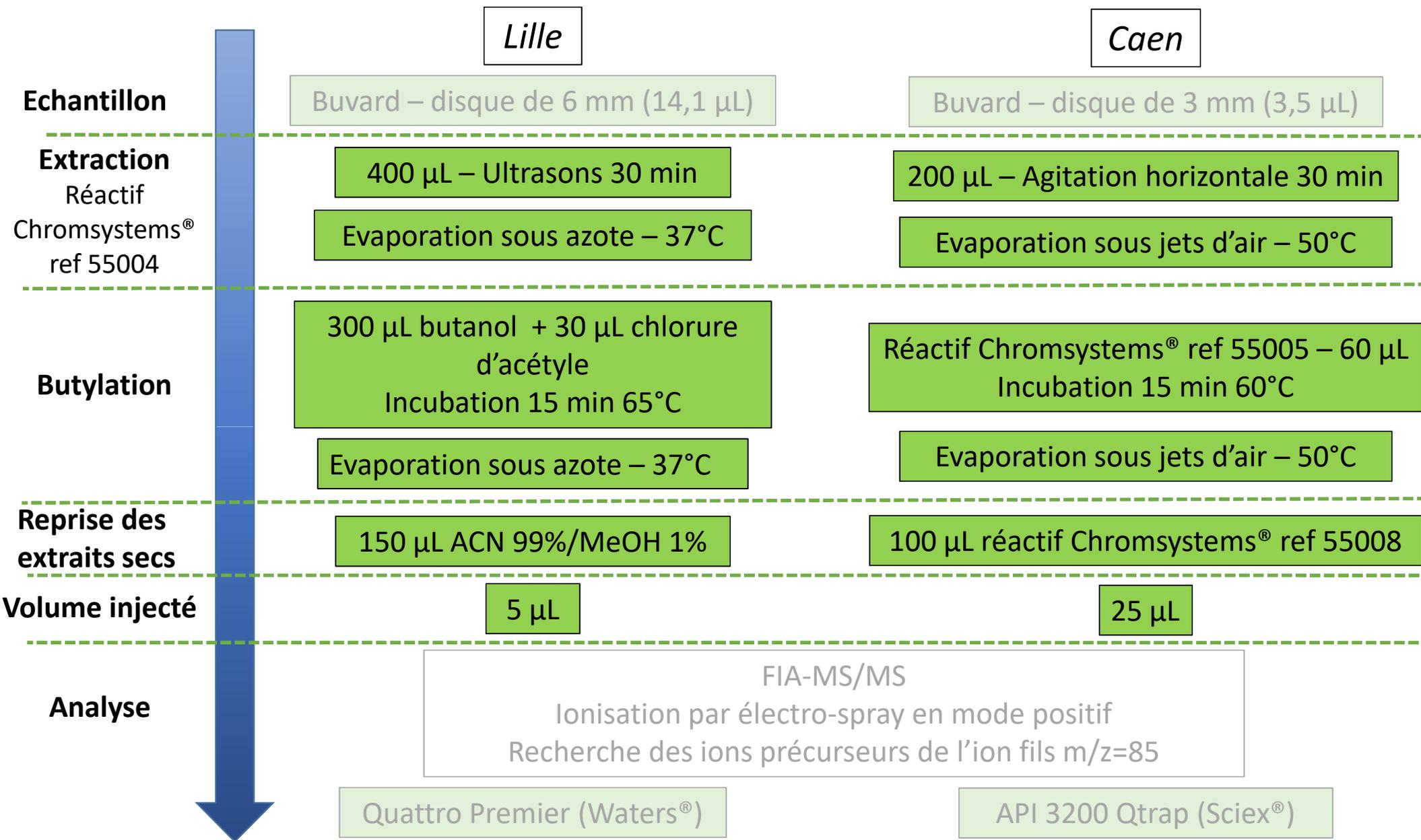
API 3200 Qtrap  
(Sciex®)



[www.chromsystems.com](http://www.chromsystems.com)



[www.sciex.com](http://www.sciex.com)



# Populations et analyse statistique

- Sang séché / plasmas
- Exclusion des non-conformités pré-analytiques et des contextes pathologiques particuliers (insuffisance rénale, péri-mortem)
- Extraction des patients présentant une MHM connue ou découverte suite à la réalisation du profil des ACN
- Séparation en douze classes d'âge (Cavedon *et al.*, 2005)

Classe d'âge	Caractéristiques
< 30 jours	Période néonatale subdivisée en quatre semaines
1-3 mois	Alimentation exclusivement lactée, repas fréquents et croissance rapide
4-6 mois	Diminution du nombre de repas, allongement des périodes de jeûne
7-12 mois	Diversification de l'alimentation, long jeûne nocturne
1-3 ans	Age pré-scolaire, augmentation de l'activité physique
4-6 ans	Age scolaire
7-12 ans	Pré-adolescence
13-18 ans	Adolescence, accélération de la croissance, augmentation de la ration alimentaire
> 18 ans	Age adulte

- IR contenant 95% des valeurs retrouvées dans la population
  - Distribution non-gaussienne donc IR limités par les 2,5<sup>ème</sup> et 97,5<sup>ème</sup> percentiles

# Sang séché -

IR

# - Plasma

ACN	Classes d'âge	2,5 <sup>ème</sup> percentile (µM)	97,5 <sup>ème</sup> percentile (µM)
C0	Toutes	10	60
C2	<b>&lt; 8 jours</b>	<b>9</b>	<b>70</b>
	8 jours – 3 ans	5	50
	> 3 ans	6	35
C3	Toutes	0,25	3,5
C4	< 6 mois	0,06	1,2
	> 6 mois	0,06	0,7
C5	Toutes	0,04	0,55
C5OH	<b>&lt; 8 jours</b>	<b>0,1</b>	<b>0,4</b>
	> 8 jours	0,1	0,8
C5DC	Toutes (quanti C5DC*)	0,02	0,3
C8	Toutes	0,01	0,3
C12:1	Toutes	0,01	0,2
C14:1	Toutes	0,01	0,25
C16	<b>&lt; 8 jours (G/F)</b>	<b>0,9 / 0,9</b>	<b>7,2 / 5</b>
	<b>8 – 30 jours</b>	<b>0,3</b>	<b>5,5</b>
	> 30 jours	0,2	2,2
C18	<b>&lt; 15 jours</b>	<b>0,25</b>	<b>1,5</b>
	> 15 jours	0,15	1,3
C18:1	<b>&lt; 15 jours</b>	<b>0,4</b>	<b>2,7</b>
	> 15 jours	0,3	2,2

ACN	Classes d'âge	2,5 <sup>ème</sup> percentile (µM)	97,5 <sup>ème</sup> percentile (µM)
C0	Toutes	10	60
C2	<b>&lt; 30 jours</b>	<b>3,5</b>	<b>30</b>
	> 30 jours	3,5	25
C3	< 1 an	0,15	1,15
	> 1 an	0,15	1
C4	Toutes	0,1	0,6
C5	<b>&lt; 30 jours</b>	<b>0,05</b>	<b>0,5</b>
	> 30 jours	0,05	0,35
C5OH	Toutes	0,02	0,25
C5DC	Toutes (quanti sur C5DC*)	0,02	0,3
C8	Toutes	0,05	0,35
C12:1	Toutes	0,02	0,25
C14:1	Toutes	0,02	0,3
C16	<b>&lt; 30 jours</b>	<b>0,02</b>	<b>0,55</b>
	> 30 jours	0,05	0,3
C18	<b>&lt; 30 jours</b>	<b>0,02</b>	<b>0,25</b>
	> 30 jours	0,03	0,2
C18:1	Toutes	0,05	0,3

# Sang séché -

# Rapports

# - Plasma

Rapport	Classe d'âge	Valeurs-seuils
C3/C2	Toutes	0,18
C3/C0	Toutes	0,15
C5/C2	<b>&lt; 8 jours</b>	<b>0,03</b>
	> 8 jours	0,025
C8/C2	Toutes	0,02
C8/C10	Toutes	2,5
C14:1/C16	<b>&lt; 22 jours</b>	<b>0,2</b>
	22 jours – 12 ans	0,4
	> 12 ans	0,25
C0/(C16+C18)	<b>&lt; 15 jours</b>	<b>30</b>
	15 jours – 6 mois	60
	> 6 mois	40
(C16+C18:1)/C2	<b>&lt; 22 jours</b>	<b>0,3</b>
	> 22 jours	0,25
C14:1/C12:1	<b>&lt; 22 jours</b>	<b>8</b>
	> 22 jours	6
C14:1/C2	<b>&lt; 8 jours</b>	<b>0,02</b>
	> 8 jours	0,015

Rapports molaires	Valeur-seuil
C3/C2	0,15
C3/C0	0,05
C5/C2	0,06
C8/C2	0,05
C8/C10	2
C14:1/C16	1,8
C0/(C16+C18)	350
(C16+C18:1)/C2	0,08
C14:1/C12:1	2,5
C14:1/C2	0,03

# Profils pathologiques : détermination de valeurs-seuils (sang séché)

Résultats

Pathologie	ACN ou rapport molaire	Valeur-seuils
Déficit MCAD	C8	> 0,67 $\mu\text{M}$
	C8/C2	> 8,4
Déficit VLCAD	C14:1/C12:1	> 2,22
AP, AMM	C3	> 3,7 $\mu\text{M}$
Acidurie isovalérique	C5	> 2,9 $\mu\text{M}$
Acidurie glutarique de type 1	C5DC (quanti sur C12*)	> 0,47 $\mu\text{M}$

## Intervalles de référence commun pour les laboratoires de biochimie métabolique des CHUs de Lille et de Caen

- Buvards / plasmas
- Profil standard et majorité des autres ACN quantifiables
- Tenant compte de l'âge et du sexe des patients

## Période de « mise à l'épreuve » des nouveaux IR

- En cours depuis 6 mois à Caen
- Comparaison de méthodes en cours à Lille
- A essayer dans vos laboratoires...



*We need YOU !*

Nous en reparlons juste après...



# Réunion ERNDIM – novembre 2017

Discussion

- Quantification sur mode MRM
- Attention à la « forme » du TIC
- A l'heure actuelle, les techniques sans dérivation présentent plus d'avantages que d'inconvénients
  - Sensibilité OK avec les nouveaux analyseurs
  - Pas d'hydrolyse donc la CO est meilleure
  - Pré-analytique plus rapide
  - Pas d'injection de composés corrosifs
- Grande variabilité : importance des IR vérifiés dans chaque laboratoire
- Avantages des techniques avec dérivation : séparation des isobares (C4DC et C5OH), meilleure sensibilité pour les ACN dicarboxyliques

# Autres questions en suspens...

- Au-delà de la quantification pour l'interprétation par le biologiste...

- Définition d'un « panel » d'ACN à rendre systématiquement ?

*Lille : C0, C2, C3, C4, C5, C8, C10, C14:1, C16, C18:1, C18 systématiquement rendues (plus si besoin)*

*Caen : idem + C12:1*

- Panel à élargir ?
- Autres rapports molaires utiles ?

# Pour la journée qualité de la SFEIM 2018

Discussion

- Recensement des pratiques nationales en matière d'ACN :
  - Volet 1 : les pratiques
    - Méthode détaillée (Echantillon ? Kit ? Dérivation ? Appareillage ? MRM ? Ions parents ? Les deux ? Temps d'acquisition ?)
    - Paramètres de validation de méthode sur les ACN majeures
    - Retour attendu pour le premier trimestre 2018
  - Volet 2 : les IR à tester
    - Indépendamment du mode d'analyse, pertinence biologique, sensibilité
    - Retour attendu pour le second trimestre 2018
  - Volet 3 : les EEQ
    - Incertitude de mesure sur les ACN évaluées (intra- et interlabo)
    - Second semestre 2018

*Objectif : publication de référence collective pour accréditation...*