

# Détermination de la concentration sérique du formiate et du glycolate par spectroscopie RMN $^1\text{H}$ : une technologie nouvelle applicable au diagnostic tardif des intoxications par le méthanol et l'éthylène glycol

## *Determination of formic and glycolic acids in serum by $^1\text{H}$ NMR spectroscopy : a new method applicable to delayed diagnosis of methanol and ethylene glycol intoxications*

---

**Bernard CARTIGNY<sup>(1)</sup>, Nathalie AZAROUAL<sup>(2)</sup>,  
Michel IMBENOTTE\*<sup>(3)</sup>, Nicole HOUDRET<sup>(1)</sup>, Henri MALANDAIN<sup>(4)</sup>,  
Gaston VERMEERSCH<sup>(2)</sup>, Michel LHERMITTE<sup>(1,3)</sup>**

---

(1) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Calmette - 59045 LILLE Cedex

(2) Laboratoire de Physique, UPRESA CNRS 8009, laboratoire d'Application RMN, Université Lille 2

(3) Laboratoire de Toxicologie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, avenue du Pr Laguesse  
BP 83 - 59006 LILLE Cedex

(4) Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier - BP 555 - 56017 VANNES

---

\* Auteur à qui adresser la correspondance : Michel IMBENOTTE, Laboratoire de Toxicologie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, avenue du Pr Laguesse - BP 83 - 59006 LILLE Cedex  
Tél : 33 3 20 96 40 40 - E-mail : mimbenot@phare.univ-lille2.fr

---

(Reçu le 22 janvier 2001 ; accepté le 28 février 2001)

## RÉSUMÉ

*L'absorption massive volontaire ou accidentelle d'alcools ou de glycols demande une prise en charge thérapeutique rapide et bien adaptée. Dans la plupart des cas, le diagnostic à l'hospitalisation fait appel à des signes cliniques et biologiques. Le dosage plasmatique simultané du méthanol et de l'éthylène glycol est aussi réalisable mais il est exceptionnel de mesurer deux métabolites toxiques intéressants : l'acide formique, métabolite du méthanol, et l'acide glycolique, pour l'éthylène glycol. Or, l'intérêt diagnostique de ces deux paramètres est essentiel, en particulier lorsque l'intoxication est découverte tardivement.*

*Par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H, les anions formiate et glycolate présentent deux singulets caractéristiques à 8,44 et 3,93 ppm, correspondant respectivement à leurs groupements fonctionnels méthine et méthylène. Dans ce travail, nous présentons la validation de la quantification du formiate et du glycolate par RMN <sup>1</sup>H. La linéarité (de 0 à 40 mmol/l) et la répétabilité (c.v. = 6,7 %) ont été déterminées. Puis l'analyse a porté sur 40 échantillons de sérum supplémentés. Des composés potentiellement interférents (alcools, diols, polyols, acides), ajoutés aux sérums, n'ont pas perturbé la quantification. L'apport de la RMN <sup>1</sup>H à ce type de diagnostic est discuté.*

### MOTS-CLÉS

*Formiate, glycolate, RMN <sup>1</sup>H, sérum, méthanol, éthylène glycol, intoxication.*

## Introduction

L'absorption massive volontaire ou accidentelle d'alcools ou de glycols entraîne généralement un état comateux qui demande un diagnostic étiologique permettant une prise en charge thérapeutique rapide et bien adaptée.

Si on excepte l'éthanol, les intoxications alcooliques les plus fréquentes sont dues au méthanol et aux glycols. Ces composés sont très couramment utilisés. En effet, le méthanol est facilement disponible car c'est un composant essentiel de l'alcool à brûler. La dose mortelle se situe entre 30 et 250 ml chez l'homme. L'éthylène glycol, le glycol le plus couramment utilisé, est lui aussi facilement disponible puisqu'il entre dans la composition d'antigel et de liquides de refroidissement. La dose mortelle est voisine de 1 ml/kg chez l'enfant et de 1,4 ml/kg chez l'adulte (1). Les intoxications, volontaires ou non, sont relativement fréquentes (2, 3), et les doses ingérées peuvent être importantes (4, 5).

La toxicité de ces composés est en partie due à leurs métabolites acides. Le méthanol est transformé en formaldéhyde et rapidement métabolisé en formiate, métabolite toxique et responsable essentiel des troubles oculaires (6). Selon Martinasevic et coll. (7), le formiate s'accumule en particulier au niveau de la tête du nerf optique et l'atteinte oculaire est fortement corrélée à la concentration sanguine en formiate (8). Il est donc

## SUMMARY

*Massive ingestion (intentional or accidental) of alcohols or glycols needs a care protocol which is both rapid and convenient. In most cases, diagnosis on admission relies on clinical and biological parameters. Determination of methanol and ethylene glycol plasma concentrations is also possible but analysis of the two metabolites, formic acid for methanol and glycolic acid for ethylene glycol, is quite exceptional. In fact, the use of these two compounds is essential in late diagnosis.*

*By <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, formate and glycolate are identified by their singlet at 8.44 and 3.93 ppm, corresponding to their methine and methylene groups respectively. The validation step of <sup>1</sup>H NMR spectroscopy consisted of the study of linearity (from 0 to 40 mmol/l), and repeatability (c.v. = 6.7 %) of the signals. Quantitation was tested on 40 spiked serum samples. Moreover, compounds with chemically related structures (alcohols, diols, polyols, acids) were added to the sera without any interference. The contribution of <sup>1</sup>H NMR spectroscopy to diagnosis is discussed.*

### KEY-WORDS

*Formate, glycolate, <sup>1</sup>H NMR, serum, methanol, ethylene glycol, poisoning.*

important d'en connaître la concentration pour le choix du traitement. La toxicité de l'éthylène glycol est en partie due à son métabolisme conduisant, par l'intermédiaire de l'alcool déshydrogénase et de l'aldéhyde déshydrogénase, à l'acide glycolique et à l'acide oxalique. Dans cette intoxication, on retrouve une acidose métabolique et un trou anionique (9). Il est d'autant plus intéressant, à côté de l'éthylène glycol, de déterminer l'acide glycolique car sa formation est rapide (10). De plus, l'acide glycolique s'élimine relativement lentement, à  $1,08 \pm 0.67 \text{ mmol.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$  (11).

Dans la plupart des cas, le diagnostic à l'hospitalisation s'appuie sur le contexte de l'intoxication et les signes cliniques (signes vitaux, état neurologique) ou biologiques (bilan biochimique d'acidose métabolique). Il est aussi possible de réaliser le dosage plasmatique du méthanol ou de l'éthylène glycol mais il est assez rare de procéder à la détermination des deux métabolites toxiques : les acides formique et glycolique. Or l'intérêt diagnostique de ces deux paramètres est reconnu, notamment quand l'interprétation du trou anionique n'est pas significative ou quand l'intoxication est découverte tardivement (10, 12-15).

Le manque d'intérêt des cliniciens pour le dosage des métabolites acides dans l'apport diagnostique peut être lié à l'absence de commercialisation de techniques de dosage simples (15) ou à la difficulté de mise en œuvre de techniques chromatographiques allongeant le délai

de réponse (8, 16). Le dosage de l'acide formique est en effet beaucoup moins répandu que celui du méthanol. Deux techniques analytiques principales sont utilisées : la chromatographie en phase gazeuse (CPG), après dérivation du formiate en ester méthylique et technique d'espace de tête avec une linéarité de 0,05 à 1,00 g/l et une limite de détection de 25 mg/l (8). Des méthodes enzymatiques ont aussi été décrites utilisant une formiate déshydrogénase bactérienne, avec libération de NADH et formation de résorufine mesurée par fluorescence (17, 18). La plupart des méthodes d'analyse de l'acide glycolique utilisent la CPG (16) mais aussi la chromatographie ionique (19). Certaines associent la mesure simultanée de l'éthylène glycol et de l'acide glycolique (20).

Dans l'optique d'obtention d'une réponse analytique fiable et relativement rapide, la spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  peut être envisagée. En effet, la quantification du méthanol a déjà été réalisée par Pappas et coll. (21) à des concentrations variant de 250 à 1500 mg/l avec une répétabilité comprise entre 0,8 et 2,0 % et une reproductibilité entre 0,9 et 1,2 %. L'application clinique avait permis d'établir pour ce composé une bonne correspondance entre les mesures de RMN  $^1\text{H}$  (7470 mg/l) et celles obtenues par chromatographie en phase gazeuse avec espace de tête (7350 mg/l), bien au-delà de la zone de linéarité étudiée par cet auteur. Dans une publication récente (22), l'analyse quantitative par RMN  $^1\text{H}$  a été validée pour l'éthylène glycol et l'identification des métabolites acides correspondant aux deux alcools a contribué au diagnostic différentiel dans trois cas d'intoxication. L'objectif de ce travail a donc été de mettre au point un protocole de quantification du formiate et du glycolate et de l'appliquer à l'analyse d'échantillons sériques supplémentés à l'aveugle. De plus, la spécificité de la méthode a pu être testée par l'étude de composés potentiellement interférents ajoutés à différents échantillons.

## Matériel et méthodes

### Réactifs et instruments

Les acides formique et glycolique proviennent de chez Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France) et les composés potentiellement interférents : éthanol, 1,2-propanediol, isopropanol, 2,3-butanediol, acide lactique et glycérol sont de qualité pour analyse.

L'acide 3-triméthylsilyl 2,2',3,3'-tétradeutéropropionique (TSP- $\text{d}_4$ ) et l'oxyde de deutérium  $\text{D}_2\text{O}$  sont fournis par Eurisotop (Saint Aubin, France). Les tubes RMN sont de qualité Wilmad.

Un pool de sérums témoins a été supplémenté (sérums

de calibration, CHR Vannes) en formiate ou en glycolate afin de réaliser des gammes de concentrations : 0, 2, 10, 20 et 40 mmol/l. Quarante échantillons inconnus ont été réalisés à partir de sérum humain. Vingt de ces échantillons ont été supplémentés avec du formiate et du méthanol, les autres avec du glycolate et de l'éthylène glycol. De plus, pour l'étude des substances potentiellement interférentes, certains échantillons ont été additionnés de composés tels que : l'éthanol, le 1,2-propylène glycol, l'isopropanol, le 2,3-butanediol, l'acide lactique et le glycérol. Ces échantillons ont été conservés à 4° C, jusqu'à l'analyse effectuée en aveugle.

Les analyses en RMN  $^1\text{H}$  ont été réalisées sur un spectromètre Bruker DPX 300 MHz à température ambiante.

### Méthodes

Dans un tube RMN de 5 mm de diamètre sont introduits 500  $\mu\text{l}$  de sérum à analyser, sans aucun prétraitement. Un capillaire coaxial contenant une solution titrée de TSP- $\text{d}_4$  dans  $\text{D}_2\text{O}$  y est ensuite inséré. Le signal du TSP- $\text{d}_4$  sert de référence pour les déplacements chimiques ( $\delta = 0,00$  ppm) et permet la quantification des composés sériques par intégration de l'aire des pics.

Une séquence de présaturation est appliquée pour diminuer le signal de l'eau. Selon la concentration des échantillons, 128 à 512 accumulations ont été réalisées sur une largeur spectrale de 3200 Hz. Avant transformation de Fourier, une fonction exponentielle correspondant à un élargissement de 0,3 Hz est appliquée. Le traitement des données a été réalisé à l'aide du logiciel WIN NMR 1D de Bruker.

Les signaux correspondant aux composés étudiés sont des singulets, c'est à dire qu'une seule résonance est utilisable pour l'identification et la quantification. En cas d'incertitude, par exemple dans une zone spectrale présentant des superpositions de résonances, l'identification peut être confirmée par l'ajout de composé standard.

La quantification du formiate, du glycolate et des autres composés présents identifiés en RMN  $^1\text{H}$  est réalisée par intégration relative au TSP- $\text{d}_4$  de concentration connue. On considère la limite de détection ( $L_d$ ) d'un composé égale à trois fois le bruit de fond. La limite de quantification ( $L_q$ ) est déterminée comme la limite inférieure de la zone de linéarité de l'étalonnage. Ces deux limites présentent une variabilité selon la région spectrale considérée. Elles seront meilleures dans une région spectrale sans superpositions de résonances où le bruit de fond est faible, et plus élevées dans des régions spectrales où des signaux interférents peuvent gêner la quantification. Les limites de détection et de quantification sont donc non seulement fonction de la

région spectrale considérée, mais aussi du nombre de protons correspondant à chaque singulet.

## Résultats et Discussion

### Validation de la méthode RMN

La caractérisation de chacun des composés est réalisée par l'observation des valeurs des déplacements chimiques. Les anions formiate et glycolate présentent en spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  chacun un singulet caractéristique, à 8,44 et 3,93 ppm, correspondant respectivement à leur groupement fonctionnel CH et  $\text{CH}_2$  (Figures 1 et 2). L'anion oxalate par contre, ne possédant pas de proton lié à un carbone, ne peut être détecté par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  en milieu aqueux.

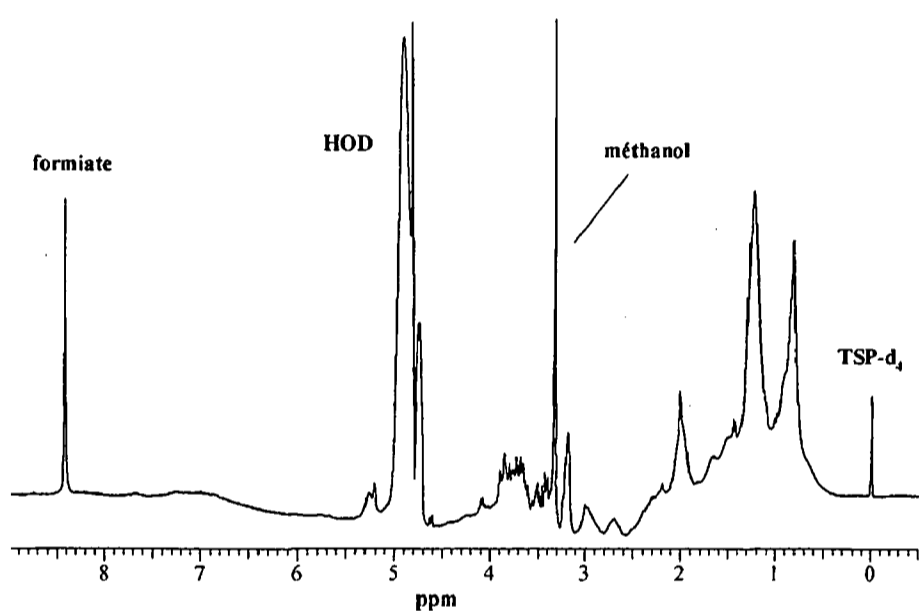


Figure 1 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  de l'échantillon sérique n°9 supplémenté en méthanol (6 mmol/l) et acide formique (11 mmol/l).

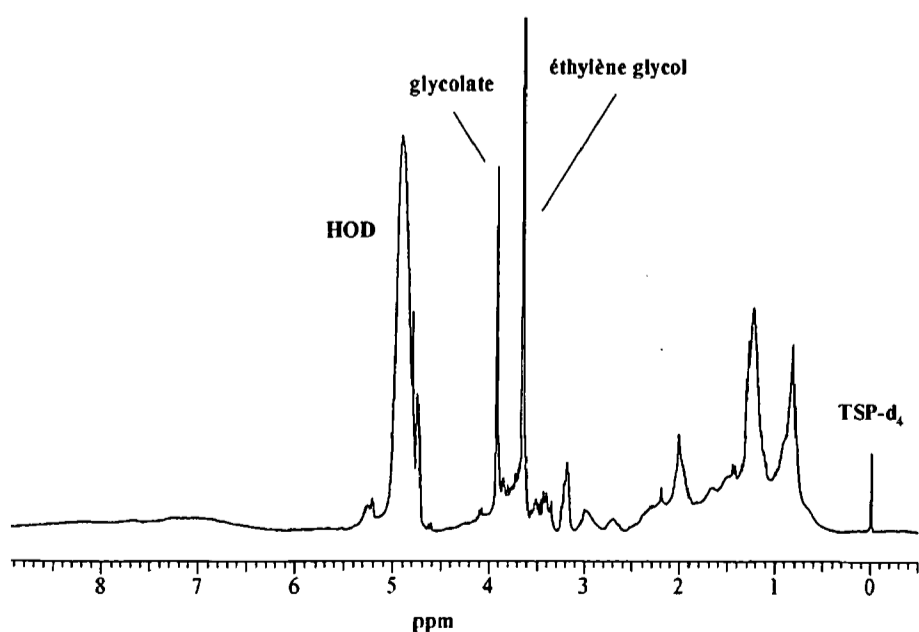


Figure 2 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  de l'échantillon sérique n°28 supplémenté en éthylène glycol (15 mmol/l) et acide glycolique (12 mmol/l).

L'analyse quantitative a porté, dans un premier temps, sur des sérums de calibration supplémentés en formiate et en glycolate dans une gamme de concentrations variant de 0 à 40 mmol/l. Si l'on reporte les mesures RMN  $^1\text{H}$  en ordonnées, en fonction des concentrations théoriques portées en abscisses, les résultats sont les suivants :

- Pour le formiate : pente ( $\pm$  écart-type) =  $0,9201 \pm 0,0099$  ( $r = 0,9998$  ;  $P = 2,8 \cdot 10^{-6}$ ).

- Pour le glycolate : pente ( $\pm$  écart-type) =  $0,9542 \pm 0,0145$  ( $r = 0,9997$  ;  $P = 7,7 \cdot 10^{-6}$ ).

L'examen des résultats montre que :

- les pentes des droites de régression calculées sont très proches de l'unité et par conséquent, l'analyse quantitative par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  peut fournir des mesures exactes.

- la significativité des corrélations entre déterminations RMN  $^1\text{H}$  et valeurs des concentrations ajoutées est excellente puisque le niveau d'erreur consentie P est de l'ordre de  $10^{-6}$ .

- la linéarité est bien vérifiée dans les gammes de concentrations étudiées. Dans un deuxième temps, des sérums ont aussi été supplémentés en formiate et en glycolate, mais à des concentrations plus faibles, échelonnées de 0,1 à 2 mmol/l, pour préciser les limites de détection et de quantification de chacun des composés. Pour le formiate, qui résonne dans une zone sans superpositions de résonances, la limite de détection a pu être estimée à 0,1 mmol/l et la limite de quantification à 0,5 mmol/l. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles indiquées par Pappas pour le méthanol (21). Le pic de résonance du glycolate est situé dans une zone spectrale ayant des superpositions de résonances et nécessite un traitement par déconvolution pour pouvoir intégrer l'aire du singulet du glycolate. La limite de détection a pu être estimée à 0,5 mmol/l et la limite de quantification est supérieure à 2 mmol/l.

Avant de procéder à une étude quantitative sur les quarante échantillons inconnus, une étude de répétabilité des signaux RMN  $^1\text{H}$  a été menée sur trois concentrations pour le formiate (5, 11 et 39 mmol/l, soit respectivement 0,23 ; 0,51 et 1,79 g/l) et quatre dans le cas du glycolate (4, 18, 27 et 35 mmol/l, soit respectivement 0,30 ; 1,37 ; 2,05 et 2,66 g/l). Pour les concentrations inférieures à 15 mmol/l, on obtient un coefficient de variation moyen de 6,7 %, et un coefficient de 4,7 % pour les concentrations de 15 à 40 mmol/l.

### Analyse d'échantillons inconnus.

Cette étude est présentée en deux parties : l'analyse des deux anions formiate et glycolate et la mise en évidence avec quantification d'autres composés présents dans les liquides biologiques et potentiellement interférents.

**Analyse du formiate et du glycolate**

Les résultats analytiques relatifs aux vingt échantillons de sérum supplémentés en formiate sont présentés dans le tableau I, ainsi que les valeurs théoriques attendues.

L'analyse des résultats a tout d'abord montré l'absence de faux positif en spectroscopie RMN <sup>1</sup>H : en absence de formiate, aucun signal n'est observé (échantillons n°s 7, 8, 14 et 18). Une régression linéaire a ensuite été menée pour analyser les résultats RMN <sup>1</sup>H en fonction des valeurs théoriques ajoutées. La pente ainsi déterminée, avec son écart-type, était  $1,0023 \pm 0,0207$ , avec un coefficient de corrélation  $r = 0,9962$  et une probabilité d'erreur consentie  $P = 1,6 \cdot 10^{-20}$ . La valeur de la pente montre un excellent accord entre concentrations mesurées par RMN <sup>1</sup>H et valeurs attendues. De plus, la significativité et la linéarité sont excellentes.

Le Tableau II regroupe de la même façon les résultats

pour les vingt autres échantillons sériques supplémentés en glycolate. L'analyse statistique donne une pente à  $1,0309 \pm 0,0259$ , avec  $r = 0,9943$  et  $P = 5,5 \cdot 10^{-19}$ . L'accord entre mesures par RMN <sup>1</sup>H et résultats attendus est vérifié, ainsi que d'excellentes significativité et linéarité.

**Autres composés détectés et quantifiés par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H**

Dans le Tableau I, sont également reportées les concentrations en méthanol, présent dans tous les échantillons sériques, sauf les échantillons n°s 3, 8, 14 et 18. La présence de ce composé, même à des concentrations relativement importantes (24,8 mmol/l, soit 0,8 g/l) ne perturbe pas les déterminations de son métabolite formiate par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H.

De l'éthanol a été mis en évidence dans les échantillons

**Tableau I : Échantillons sériques inconnus : résultats en mmol/l du formiate et des interférents par la méthode de RMN <sup>1</sup>H.**

échantillon inconnu	Formiate (mmol/l)		Autres composés ajoutés et détectés (mmol/l)	
	supplémentation réalisée	mesure RMN <sup>1</sup> H	méthanol par RMN <sup>1</sup> H	divers par RMN <sup>1</sup> H
1	3	1,9	18,3	éthanol : 10,9
2	37	35,9	1,3	
3	12	10,3	0	éthanol : 32,6
4	20	19,7	13,2	
5	7	6,2	19,5	
6	28	29,1	17,1	
7	0	0	2,0	éthanol : 65,2
8	0	0	0	éthanol : 4,3 lactate : 20
9	11	11,7	6,0	
10	5	4,9	16,1	propylène glycol : 10
11	39	40,7	5,2	
12	4	4,7	24,8	
13	28	29,2	4,0	
14	0	0	0	
15	31	27,8	7,8	éthanol : 17,4
16	17	18,3	16,3	
17	14	14,5	9,4	
18	0	0	0	éthanol : 51,1
19	2	2,2	24,1	isopropanol : 10
20	8	7,9	5,6	

n°s 1, 3, 7, 8, 15 et 18. En spectroscopie RMN <sup>1</sup>H, ce composé est en effet caractérisé par deux signaux : un triplet à 1,19 ppm, correspondant au groupement méthyle et un quadruplet à 3,66 ppm attribué au groupement méthylène. La quantification de l'éthanol est réalisée par intégration de son triplet par rapport au signal du TSP-d<sub>4</sub>. Les valeurs mesurées variaient de 4,3 mmol/l (0,2 g/l) à 65 mmol/L (3 g/l). Il est important que l'éthanol n'interfère pas dans les analyses car ce composé est utilisé comme antidote dans le traitement de l'intoxication aiguë au méthanol ; il est donc très courant de retrouver aussi l'éthanol dans l'analyse des liquides biologiques.

Le propylène glycol (1,2-propanediol) est caractérisé par un doublet résonnant à 1,14 ppm attribué au groupement méthyle et par des multiplets de déplacements chimiques situés entre 3,50 et 4,00 ppm et dûs aux deux autres types de protons. Ce composé a été détecté dans

l'échantillon n° 10 et quantifié à 10 mmol/l (0,76 g/l). Il ne perturbe pas la quantification du formiate par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H.

L'acide lactique, composant physiologique du sérum, présente deux signaux caractéristiques en spectroscopie RMN <sup>1</sup>H : un doublet à 1,31 ppm correspondant au groupement méthyle et un quadruplet à 4,10 ppm dû au proton porté par le carbone 2. Dans les sérums non supplémentés par ce composé, il a été quantifié à 3 mmol/l (0,27 g/l). Dans l'échantillon n° 8, où il a été ajouté comme interférent potentiel, sa concentration était de 20 mmol/l (1,80 g/l).

Dans cette série, l'isopropanol ou 2-propanol a été mis en évidence dans l'échantillon n° 19, par son doublet à 1,14 ppm et son multiplet à 4,99 ppm. Sa concentration était de 10 mmol/l, (0,60 g/l).

En ce qui concerne l'analyse des composés ajoutés aux échantillons sériques supplémentés en glycolate, l'exa-

**Tableau II : Échantillons sériques inconnus : résultats en mmol/l du glycolate et des interférents par la méthode de RMN <sup>1</sup>H.**

échantillon inconnu	Glycolate (mmol/l)		Autres composés ajoutés et détectés (mmol/l)	
	supplémentation réalisée	mesure RMN <sup>1</sup> H	éthylène glycol par RMN <sup>1</sup> H	divers par RMN <sup>1</sup> H
21	30	29,9	7,3	
22	3	4,5	0	
23	10	9,6	24,0	
24	0	0	30,1	
25	27	26,6	12,0	propylène glycol : 2
26	17	17,5	4,0	
27	4	5,1	0	glycérol : 10
28	12	12,5	15	
29	0	0	0	
30	0	0	12,2	
31	8	9,6	16,5	
32	24	26,9	6,6	
33	14	12,6	0	propylène glycol : 10
34	2	2,6	4,0	éthanol : 43,4
35	22	22,3	0	2,3-butane diol : 20
36	39	41,7	15,3	
37	10	11,4	38,5	lactate : 10
38	35	36,6	36,6	
39	0	0	0	
40	18	21,0	11,2	

men du Tableau II montre également la présence d'éthylène glycol, sauf dans les échantillons n°s 22, 27, 29, 33, 35 et 39. La quantification par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H de son métabolite, le glycolate, n'est pas perturbée, même pour des concentrations dépassant 30 mmol/l (1,86 g/l), comme c'est le cas dans les échantillons nos 24, 37 et 38.

L'éthanol a bien été identifié par RMN dans l'échantillon n° 34 et mesuré à 43,4 mmol/l (2 g/l). Cet ajout n'entraîne aucune perturbation dans la quantification.

La présence de 1,2-propylène glycol a été décelée dans les échantillons n° 25 et 33, aux concentrations respectives de 2 et 10 mmol/l (152 et 761 mg/l). Elle n'a aucune conséquence significative sur les mesures de glycolate.

La supplémentation en acide lactique a été détectée dans l'échantillon n° 37, à une concentration de 10 mmol/l (900 mg/l).

Le 2,3-butane-diol a un spectre assez proche de celui du propylène glycol. Il a été mesuré dans l'échantillon n° 35 à 20 mmol/l (1,80 g/l). Sa présence n'a pas de conséquence sur la mesure de l'acide glycolique.

Le glycérol présente en RMN <sup>1</sup>H un ensemble de multiplets entre 3,65 et 3,70 ppm. Il a été mesuré dans l'échantillon n° 27 à 10 mmol/l (0,92 g/l). Sa présence n'a pas d'influence significative sur les résultats du glycolate.

## Conclusions

Les résultats des analyses montrent l'applicabilité de la spectroscopie RMN <sup>1</sup>H à la détermination directe du formiate et du glycolate. Comme cela a déjà été montré (22), la RMN <sup>1</sup>H est un outil intéressant dans le diagnostic de ce type d'intoxication car elle permet, sans traitement préalable de l'échantillon, l'identification spécifique et la quantification des deux toxiques, en une seule analyse. De plus, il est possible de récupérer l'échantillon pour des investigations ultérieures. Cette méthode nouvelle demande une interprétation relativement délicate et ne présente pas de faibles limites de détection, mais dans un contexte de surdosage, elle peut se révéler à l'avenir fort utile car elle peut donner une réponse rapide, sans a priori quant à la nature des composés chimiques présents, contrairement aux autres techniques analytiques.

Toutefois, quelles que soient les méthodes utilisées, les intoxications par le méthanol et l'éthylène glycol sont suffisamment graves pour que l'on doive disposer à tout moment, non seulement du dosage des deux substances mères, mais aussi de leurs métabolites. Par ailleurs, la mise en évidence de la perturbation de composés endogènes comme l'acide lactique ou les corps cétoniques peut également constituer une aide au diagnostic. Les métabolites formiate et glycolate étant en partie responsables de la toxicité, leur taux sanguin constitue un indicateur de la gravité de l'intoxication et permet l'ajustement des traitements nécessaires.

## Références

1. Viala A. *Eléments de Toxicologie*. Paris : Tec & Doc Lavoisier – Editions Médicales Internationales, 1998 : 235-9.
2. Karlson-Stiber C., Persson H. Ethylene glycol poisoning : experiences from an epidemic in Sweden. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1992 ; 30 : 565-74.
3. Stompór T., Szymczakiewicz Multanowska A., Pach J. Groszek B., Winnik L., Kuzniewski M. Ethylene glycol acute poisoning treatment results in Kraków in the years 1990-1994. *Przegl. Lek.* 1996 ; 53 : 360-4.
4. Davis D.P., Bramwell K.J., Hamilton R.S., Williams S.R. Ethylene glycol poisoning : case report of a record-high level and a review. *J. Emerg. Med.* 1997 ; 15 : 653-67.
5. Johnson B., Meggs W.J., Bentzel C.J. Emergency department hemodialysis in a case of severe ethylene glycol poisoning. *Ann. Emerg. Med.* 1999 ; 33 : 108-10.
6. Wu A.H., Kelly T., McKay C., Ostheimer D., Forte E., Hill D. Definitive identification of an exceptionally high methanol concentration in an intoxication of a surviving infant : methanol metabolism by first-order elimination kinetics. *J. Forensic Sci.* 1995 ; 40 : 315-20.
7. Martinasevic M.K., Green M.D., Baron J., Tephly T.R. Folate and 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase in human and rat retina : relation to methanol toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1996 ; 141 : 373-81.
8. Fraser A.D., MacNeil W. Gas chromatographic analysis of methyl formate and application in methanol poisoning cases. *J. Anal. Toxicol.* 1989 ; 13 : 73-6.
9. Jacobsen D., Ovreb S., Ostborg J., Sejersted O.M. Glycolate causes the acidosis in ethylene glycol poisoning and is effectively removed by hemodialysis. *Acta Med. Scand.* 1984 ; 216 : 409-16.
10. Fraser A.D. Importance of glycolic acid analysis in ethylene glycol poisoning (letter). *Clin.Chem.* 1998 ; 44 : 1769-70.
11. Moreau C.L., Kerns W. 2<sup>nd</sup>, Tomaszewski C.A., McMartin K.E., Rose S.R., Ford M.D., Brent J. Glycolate kinetics and hemodialysis clearance in ethylene glycol poisoning. Meta study group. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1998 ; 36 : 659-66.

12. Osterloh J.D., Pond S.M., Grady S., Becker C.E. Serum formate concentration in methanol intoxication as a criterion for hemodialysis. *Ann. Intern. Med.* 1986 ; 104 : 200-3.
13. Mahieu P., Hassoun A., Lauwerys R. Predictors of methanol intoxication with unfavourable outcome. *Hum. Toxicol.* 1989 ; 8 : 135-7.
14. Darchy B., Abruzzese L., Pitiot O., Figuerido B., Domart Y. Delayed admission for ethylene glycol poisoning : lack of elevated serum osmol gap. *Intensive Care Med.* 1999 ; 25 : 859-61.
15. Malandain H., Cano Y. Place des techniques enzymatiques dans le diagnostic et le suivi des intoxications par un alcool ou un glycol. *Toxicorama* 1999 ; 11 : 272.
16. Fraser A.D. MacNeil W. Colorimetric and gas chromatographic procedure for glycolic acid in serum : the major toxic metabolite of ethylene glycol. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1993 ; 31 : 397-405.
17. Shahangian S., Ash K.O., Rollins D.E. An enzymatic method for the analysis of formate in human plasma. *J. Anal. Toxicol.* 1984 ; 8 : 273-6.
18. Triebig G., Schaller K.H. A simple and reliable enzymatic assay for the determination of formic acid in urine. *Clin. Chim. Acta* 1980 ; 108 : 355-60.
19. Yamaguchi K., Ogawa Y. Determination of urinary glycolate by ion chromatography : clinical and experimental implication. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi.* 1997 ; 88 : 984-91.
20. Yao H.H., Porter W.H. Simultaneous determination of ethylene glycol and its major toxic metabolite, glycolic acid, in serum by gas chromatography. *Clin. Chem.* 1996 ; 42 : 292-7.
21. Pappas A.A., Thompson J.R., Fuller G., Porter W.H., Gadsden R.H. High-resolution proton nuclear magnetic resonance spectroscopy in the detection of low molecular weight volatiles. *J. Anal. Toxicol.* 1993 ; 17 : 273-7.
22. Wahl A., Azaroual N., Imbenotte M., Mathieu D., Forzy G., Cartigny B., Vermeersch G., Lhermitte M. Poisoning with methanol and ethylene glycol : <sup>1</sup>H NMR spectroscopy as an effective clinical tool for diagnosis and quantification. *Toxicology* 1998 ; 128 : 73-81.