



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université de Saad Dahlab-Blida

جامعة سعد دحلب-البلدية

Faculté de médecine

كلية الطب

Département de Pharmacie

قسم الصيدلة

Dosage de la créatinine : la méthode de jaffé modifiée versus la méthode enzymatique (étude comparative)

Thèse d'exercice

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

Le : 25-07-2021

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée par :	TIRICHINE Amina Zoulikha	
	KAHOUL Kenza	
Encadrée par :	Dr.MEHERHERA S.	MA en biochimie médicale-laboratoire central CHU Frantz Fanon-Blida
Devant le jury :		
Président du jury :	Pr.ABDI S.	Professeur en biochimie médicale, chef de service du laboratoire central-CHU Frantz Fanon-Blida
Examineur 1 :	Pr.CHERIF R.A.	MCA en chimie analytique-faculté de médecine d'Alger
Examineur 2 :	Dr.DOUAIBIA L.	MA en biochimie médicale-faculté de médecine d'Alger

Année universitaire : 2020-2021

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous tenons à remercier « Dieu » Le Tout Puissant et Miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience pour accomplir ce travail.

*Au professeur **ABDI S.** présidente de jury,*

Nous sommes privilégiées et particulièrement fières de l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury, recevez l'assurance de notre reconnaissance et de notre profond respect.

*Aux examinateurs, **Pr. CHERIF R.A.** et **Dr. DOUAIBIA L.**,*

Nous tenons à vous remercier pour le temps que vous avez consacré à la lecture de notre travail et pour le plus que vous apportez en l'examinant.

Permettez-nous de vous exprimer notre sincère gratitude.

*Au **Dr. MEHERHERA S.**, notre promotrice,*

C'est un grand honneur pour nous de travailler sous votre encadrement, nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail, vos conseils et remarques nous étaient d'un grand apport pour la réalisation de ce travail, votre compétence pratique, vos qualités humaines et professionnelles ainsi que votre disponibilité nous inspirent une grande admiration et un profond respect.

Veillez trouver ici, chère docteur, l'expression de notre gratitude et notre grande estime.

*Aux **personnels de santé** des différents services et laboratoires du CHU Frantz Fanon à Blida, spécialement à l'équipe de l'unité de biochimie et aux réceptionnistes, et de l'UHU Hassiba Ben Bouali,*

Merci à vous tous pour votre franche collaboration et votre esprit d'équipe.

*Nous rendons spécialement hommage au défunt **Dr. Mokhbat F.** qui n'a ménagé aucun effort pour nous aider durant la réalisation de ce travail, Puisse Dieu avoir pitié de lui et donner à sa famille endeuillée la force nécessaire pour qu'elle puisse surmonter cette épreuve.*

*Nos remerciements vont également aux **Drs. EL KEBOUBE A., AMIMER A. et BOUCHACHIA H.** Pour leur aide précieuse et leur soutien au long de ce travail.*

Enfin, nous remercions nos collègues, amis et tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je dédie cette thèse...

A Mon Père, l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, je ne pourrai jamais le remercier assez pour tout le soutien et l'amour qu'il me la porter durant mon enfance. Que ce modeste travail soit l'exaucement de ces vœux tant formulés, le fruit de ses innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. J'espère être la fille que tu as voulu que je sois. Ce titre de docteur je le porterai fièrement et je te le dédie tout particulièrement.

A Puisse Dieu, le Très Haut, l'accueil en son vaste paradis Amine.

A ma très chère maman, à toi la plus belle des mamans, je te remercie pour ton amour sans fin, ton écoute permanente, ta tendresse et ton soutien inconditionnel. Tu es pour moi un exemple de courage et de persévérance dans la vie au quotidien.

Tu étais toujours là quand j'avais besoin de toi. Aucun mot ne saurait exprimer l'estime, le grand amour et le respect que je te porte.

A mon frère MOHAMMED AMINE et mes sœurs IMENE, AYA, quoique je dise je ne saurais exprimer l'amour et la tendresse que j'ai pour vous. Sans vous ma vie n'aurait pas eu le même goût. Je vous souhaite un avenir florissant et une vie pleine de bonheur et de prospérité. . Je remercie spécialement ma moitié IMENE, vous m'avez toujours soutenu, compris et réconforté, vous êtes et vous restez toujours ma préférée.

Que DIEU nous donne tous la grâce de rester toujours unis et qu'il bénisse tous vos projets et ambitions.

A ma chère amie et sœur IMENE BOUSMAIL , aucune expression ne pourrait exprimer à leur juste valeur, la reconnaissance, le soutien, le respect , l'estime que je vous dois et l'amitié qui nous a unie, et nous unira pour toujours. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi et pour votre présence à chaque instant de ma vie.

A mon binôme et copine TIRICHINE ZOULIKHA AMINA, Je dédie ce travail à toutes nos préparations, les jours et les nuits blanches, nos larmes et nos fous rires, nos déceptions et nos éclats de joie, à tous les moments qu'on a passés ensemble, à notre belle amitié. Que dieu te comble de bonheur, de santé, de succès et de prospérité dans ta vie et te protège.

A mon fiancé, qu'est -e que je vais te dire que tu ne sais déjà? Rien du tout ! Mais je voudrais seulement te laisser quelques mots. Sache que je suis très heureuse de t'avoir connu pour la personne extraordinaire, sincère et serviable que tu es et d'avoir eu à partager beaucoup chose avec toi. Tu m'as toujours apporté ton soutien et tes encouragements tout au long de cette thèse. Merci encore pour tout. Que Dieu nous accorde la grâce de toujours rester ensemble.

A mes Oncles et Tantes, Je vous dis merci pour la grande affection à mon égard et votre soutien, que dieu Le Tout Puissant vous donne santé, bonheur, et longue vie.

A mes collègues, copines et à tous ceux que ma réussite leur tient à cœur.

KAHOUK Kenza

DEDICACES

Je dédie ce travail

A mes chers parents qui n'ont ménagé aucun effort pour mon éducation, et qui ont été toujours présents pour me soutenir et m'encourager durant toute ma vie et toutes mes années d'études.

Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A mes deux sœurs et à mon unique frère qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

A mon cher grand-père, ma famille, mon beau-frère, ma future belle-sœur et à ceux qui me donnent de la joie et de la vivacité.

A mon binôme et ma copine, avec qui j'ai partagé des moments précieux et appris tant de choses durant cette expérience.

A mes enseignantes du Quoran qui m'ont toujours soutenu et appris tant de leçons de vie et de morale qu'on ne trouve jamais ailleurs.

A toutes mes amies qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

TIRICHINE Amina Zoulikha

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	2
CHAPITRE I : CREATININE ET FONCTION RENALE	4
1 La créatinine	5
1.1 Historique	5
2 Les reins	8
2.1 Rappel anatomo-physiologique	8
• Anatomie	8
• Physiologie	9
2.2 Pathologies	10
2.3 Place de la créatinine dans l'exploration de la fonction rénale	11
2.3.1 Rôle dans l'évaluation de la fonction rénale globale	11
2.3.1.1 Examens biologiques sanguins	11
2.3.1.2 Examens biologiques urinaires	11
2.3.2 Rôle dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire	12
2.3.2.1 Notion du DFG	12
-Calcul du DFG	12
a. Dosage de l'inuline (gold standard) :	12
b. La cystatine C	13
c. Clairance de la créatinine (ClCr)	13
d. Estimation de la clairance de la créatinine	15
- Formule de COCKCROFT et GAULT	15
- Formule du MDRD	15
- Formule de CKD-EPI	16
- Formule de BIS I et BIS II	17
- Formule de SCWARTZ	17
2.3.3 Rôle dans la classification de l'insuffisance rénale	19
2.3.3.1 Cas de l'insuffisance rénale aiguë	19
2.3.3.2 Cas de l'insuffisance rénale chronique	20
2.3.4 Autres intérêts de la créatinine	20
CHAPITRE II : LES METHODES DE DOSAGE DE LA CREATININE	21
1. Prélèvement	22
1.2. Conditions du prélèvement	22
2. Méthodes de dosage utilisées	22
2.1. Méthodes colorimétriques	22
2.1.1 Méthode de Jaffé	22

2.1.2	Méthode de Jaffé en cinétique (modifiée)	23
2.1.3	Méthode de Jaffé compensée	23
2.2	Méthodes enzymatiques	23
2.3	Méthode de dosage par chimiluminescence (CL)	25
2.4	Méthode chromatographique	26
2.4.1	La dilution isotopique associée à des méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse DIM	26
CHAPITRE III : LES PRINCIPES DE COMPARAISON DES METHODES DE DOSAGE.....		29
1	Généralité	30
2	Vérification/validation des performances d'une méthode d'analyse	30
•	Histoire	30
•	Validation Versus vérification	30
2.1	Les paramètres d'évaluation des performances analytiques	30
2.1.1	La fidélité (precision)	30
2.1.1.1	Répétabilité (repeatability, within-run precision)	31
2.1.1.2	Reproductibilité /fidélité intermédiaire (intermediate precision)	31
2.1.2	Justesse	32
2.1.3	Limite de détection	32
2.1.4	Limites de linéarité (linearity interval)	32
-	Limite de quantification	33
-	Effet dilution (dilution effect)	33
2.1.5	Exactitude (accuracy).....	33
2.1.6	Contamination inter-échantillons (carry-over)	34
2.1.7	Évaluation de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine et de la turbidité des échantillons	34
2.1.8	Étude de la stabilité des échantillons des réactifs et des étalons (stabilities)	34
2.1.9	Spécificité analytique (specificity)/sélectivité (selectivity)	35
3	Evaluation de concordance des méthodes	35
3.1	Corrélation de Pearson :	36
3.2	La régression de Passing et Bablok	36
3.3	Analyse graphique de Bland-Altman	36
4	Performance clinique	38
PARTIE PRATIQUE.....		39
1	Objectifs de l'étude	40
2	Matériels et méthodes	41
2.1	Cadre de l'étude	41
2.2	Echantillons biologiques	41

2.2.1	Critères d'inclusion	41
2.2.2	Critère d'exclusion	41
2.2.3	Prélèvement sanguin	41
•	Conservation des échantillons	41
2.3	Recueil des données	42
2.4	Moyens et matériels	43
2.4.1	Verrerie et petit matériel	43
2.4.2	Appareillage	43
•	Présentation générale de COBAS INTEGRA® 400 plus	44
2.4.3	Réactifs	46
2.4.4	Réactifs auxiliaires	47
a-	Contrôle interne de qualité QIC	47
b-	Calibration	49
2.5	Méthodes	51
2.5.1	Méthodes de dosage	51
2.5.2	Analyses statistiques	51
3	Résultats	53
3.1	Description de la population étudiée	53
3.2	Répartition de la population	54
3.2.1	Selon le sexe	54
3.2.2	Selon l'âge	54
3.2.3	Selon le poids	55
3.2.4	Selon les maladies atteintes	56
3.2.5	Selon les valeurs de la créatinine sanguine	56
3.2.6	Selon l'interprétation des valeurs de la créatinine sanguine mesurée	57
3.2.6.1	Chez toute la population	57
3.2.6.2	Chez les hommes	57
3.2.6.3	Chez les femmes	57
3.2.6.4	Chez les enfants	57
3.2.7.	Selon la clairance et le DFG	58
3.2.7.1	Cas de la formule de CG	58
3.2.7.2	Cas du DFG calculé par la formule MDRD	58
3.2.7.3	Cas du DFG calculé par la formule de CKD-EPI.....	58
3.2.7.4	Cas du DFG calculé par la formule de BIS I	59
3.2.7.5	Cas du DFG calculé par la formule de Schwartz	59
3.3	Relation entre La clairance/ DFG estimé et la créatinine sanguine	60

3.3.1	Cas de formule Cockcroft & Gault (CG)	60
3.3.2	Cas de formule MDRD	60
3.3.3	Cas de formule CKD-EPI	61
3.3.4	Cas de formule BIS I (sujets âgés plus de 70 ans)	61
3.3.5	Cas de formule de Schwartz (pour les enfants moins de 18 ans)	62
3.3.6	Corrélation entre l'âge et le DFGe (Formule CKD-EPI)	63
3.3.7	Corrélation entre l'IMC et le DFGe (Formule CKD-EPI)	64
3.4	Evaluation de la performance analytique des deux méthodes	65
3.4.1	La méthode de Jaffé modifiée	65
3.4.1.1	Fidélité	65
a-	Répétabilité	65
b-	Reproductibilité	68
3.4.1.2	Justesse	70
3.4.2	La méthode enzymatique	71
3.4.2.1	Fidélité	71
a-	Répétabilité	71
b-	Reproductibilité	73
3.4.2.2	Justesse	75
3.4.3	Comparaison des performances analytiques	75
3.4.3.1	Répétabilité	75
3.4.3.2	Reproductibilité	75
3.4.3.3	Justesse	76
3.4.4	Autres paramètres	77
3.5	Comparaison technique et économique	79
3.6	Evaluation de concordance des deux méthodes	80
3.6.1	Comparaison des deux méthodes de dosage de la créatinine	80
	La régression de Passing et Bablok	80
	Analyse graphique de Bland-Altman	81
3.6.2	Comparaison des deux méthodes utilisées dans le calcul de chaque formule	82
3.6.2.1	Cas de formule (CG) (normalisée)	82
	La régression de Passing et Bablok	82
	Analyse graphique de Bland-Altman	82
3.6.2.2	Cas de formule MDRD	83
	La régression de Passing et Bablok	83
	Analyse graphique de Bland-Altman	83
3.6.2.3	Cas de formule CKD-EPI	84

La régression de Passing et Bablok	84
Analyse graphique de Bland-Altman	84
3.6.2.4 Cas de formule BIS I (pour les sujets de plus de 70 ans)	85
La régression de Passing et Bablok	85
Analyse graphique de Bland-Altman	85
3.6.2.5 Cas de formule de Schwartz (pour les enfants)	86
La régression de Passing et Bablok	86
Analyse graphique de Bland-Altman	86
3.6.3 Effet de l'hyperbilirubinémie sur la concordance des deux méthodes	87
3.7 La performance clinique	88
4 Discussion	90
CONCLUSION.....	101
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	103
ANNEXES.....	109
RÉSUMÉ.....	121

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : La créatine	5
Figure 2:Structure de la créatinine	5
Figure 3:voie métabolique de la créatine	7
Figure 4:métabolisme de la créatinine	7
Figure 5: Coupe longitudinale du rein gauche	8
Figure 6:Structure du néphron.....	9
Figure 7:Le débit de filtration glomérulaire	12
Figure 8:Relation entre la créatinine sérique et sa clairance urinaire	13
Figure 9 Les réactions de la méthode enzymatique	24
Figure 10 Résultat du contrôle national de qualité (CNQ) de l'ANSM pour les concentrations basses de créatinine	25
Figure 11:Mécanisme CL du système (créatinine/H ₂ O ₂ /Co ²⁺).....	25
Figure 12 Les différentes étapes de la méthode de détermination de la créatinine par DI-GC/MS	27
Figure 13:Comparaison des méthodes : diagramme de dispersion à gauche et diagramme des différences à droite.	37
Figure 14: Exemple de fiche de renseignement utilisée pour le recueil des données	42
Figure 15: Répartition de la population selon les services	53
Figure 16: Répartition de la population adulte selon le sexe	54
Figure 17:Répartition des adultes selon les tranches d'âge	54
Figure 18:Répartition des enfants selon les tranches d'âge	54
Figure 19: Classification de la population selon le poids.....	55
Figure 20:Répartition de la population selon les différentes maladies	56
Figure 21: représentation graphique de la relation clairance(CG) -Créat enzymatique.....	60
Figure 22:représentation graphique de la relation clairance (CG)-Créat Jaffé	60
Figure 23:représentation graphique de la relation DFG (MDRD) -Créat Jaffé	60

Figure 24:représentation graphique de la relation DFG (MDRD)-Créat enzymatique.....	60
Figure 25:représentation graphique de la relation DFG (CKD-EPI)-Créat enzymatique	61
Figure 26:représentation graphique de la relation DFG (CKD-EPI)-Créat Jaffé.....	61
Figure 27:représentation graphique de la relation DFG (CKD-EPI)-Créat Jaffé.....	61
Figure 28:représentation graphique de la relation DFG (BIS I)-Créat enzymatique	61
Figure 29:représentation graphique de la relation DFG (Schwartz)-Créat Jaffé	62
Figure 30:représentation graphique de la relation DFG (Schwartz)-Créat enzymatique.....	62
Figure 31:Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok.....	80
Figure 32:Représentation graphique du graph de Bland-Altman.....	81
Figure 33:Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok-formule CG	82
Figure 34:Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule CG	82
Figure 35: Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok-formule MDRD.....	83
Figure 36:Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule MDRD.....	83
Figure 37:Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok -formule CKD-EPI .	84
Figure 38: Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule CKD-EPI.....	84
Figure 39 :Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok-formule BIS I	85
Figure 40 :Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule BIS I.....	85
Figure 41 :Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok -formule Schwartz .	86
Figure 42:Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule Schwartz.....	86
Figure 43:Représentation graphique de l'effet de l'hyperbilirubinnémie sur la concordance des deux méthodes du dosage de la créatinine	87
Figure 44:Représentation graphique de la différence entre les deux méthodes de dosage de la créatinine en fonction des valeurs de la bilirubine totale	87

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1:Les principales caractéristiques de la créatinine	6
Tableau 2 : Cas où la créatinine ne semble être utilisée.....	14
Tableau 3:caractéristiques des différentes formules	18
Tableau 4: Classification de l'IRA	19
Tableau 5:Classification des stades d'évolution de la maladie rénale	20
Tableau 6:Les différentes méthodes de dosage de la créatinine	28
Tableau 7:Répartition de la population selon l'âge	54
Tableau 8: Classification de la population selon l'indice de masse corporelle (IMC)	55
Tableau 9:Répartition de la population selon les maladies atteintes.....	56
Tableau 10: Résultats de l'étude de la répétabilité de la méthode de Jaffé modifiée	66
Tableau 11:Résultats de l'étude de reproductibilité de la méthode de Jaffé modifiée pour les valeurs (N)	68
Tableau 12:Résultats de l'étude de reproductibilité de la méthode de Jaffé modifiée pour les valeurs (P).....	69
Tableau 13:Résultats de l'étude de la justesse de la méthode de Jaffée modifiée.....	70
Tableau 14: Résumé des résultats de répétabilité des deux méthodes étudiées	75
Tableau 15: Résumé des résultats de reproductibilité des deux méthodes étudiées	75
Tableau 16: Résumé des résultats de la justesse des deux étudiées	76
Tableau 17:Tbleau récapitulatif de l'évaluation bibliographique des autres paramètres analytiques.....	77

LISTE DES ABREVIATIONS

AACC	American Association for Clinical Chemistry	hCG	human Chorionic Gonadotropin
ADP	Adénosin DiPhosphate	HI	Iodure d'hydrogène
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé	IDMS	Isotope Dilution Mass Spectrometry
ANSM	L'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé	IMC	Indice de Masse Corporelle
ATP	Adénosine TriPhosphate	IRA	Insuffisance Rénale Aiguë
BIS	Berlin initiative study	IRC	Insuffisance rénale chronique
CE (certification)	Conformité Européenne	IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
CF-Lvad	Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device	JCTLM	Joint Commitee for Traceability in Laboratory Médecine
CIQ	Contrôle Interne de Qualité	KIMS (technique)	Kinetic Interaction of Microparticles in Solution
CK	Créatine Kinase	LBM	Laboratoire De Biologie Médicale
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease EPIdemiology collaboration	LC- IDMS	Liquid Chromatography-Isotope Dilution Mass Spectrometry
CL	Chimiluminescence	LOD	Limit Of Detection
CICr	Clairance de la créatinine	MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute	MRC	Matériau de Référence Certifié
CNQ	Contrôle National de Qualité	MSTFA	N-Methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide
COBAS	Comprehensive Bio-Analytical System	NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
C-UL (certification)	Underwriters Laboratories of canada (Laboratoires des assureurs du Canada)	OMS	Organisation Mondiale de Santé
CV	Coefficient de Variation	PCr	Phosphocréatine
CVA	Coefficient de Variation Analytique	PSA	Antigène Prostatique Spécifique
EEQ	Evaluations Externes de la Qualité	SCr	Serum Creatinine
EPO	érythropoïétine	SFBC	Société Française de Biologie Clinique
GC-IDMS	Gas Chromatography combined with Isotope Dilution Mass Spectrometry	SI	Système international d'unités
DMDIV	Dispositifs Médicaux De Diagnostic In Vitro	UV	Ultra-Violet
FDA	Food and Drug Administration		
HAS	Haute Autorité de Santé		

GLOSSAIRE

- **Absorbance** : la mesure de la capacité d'un milieu à absorber la lumière qui le traverse.
- **Acide aminé** : molécule organique possédant un squelette carboné et deux groupes fonctionnels: une amine ($-NH_3$) et un acide carboxylique ($-COOH$), éléments de base constituant les protéines
- **Allogreffe** : opération chirurgicale consistant à transférer un organe ou un tissu provenant d'une autre personne, le donneur, sur un receveur.
- **Analyte** : la substance ou la quantité à déterminer d'une espèce chimique dans une analyse chimique
- **Anonymisation** : traitement qui rend impossible l'identification d'une personne à partir d'un jeu de données.
- **Anthropométrie** : la mesure des particularités dimensionnelles d'un homme.
- **Antidopage** : pratique destinée à lutter contre le dopage, c'est-à-dire contre l'usage des drogues ou des substances médicamenteuses quand celles-ci sont utilisées en vue d'améliorer les performances.
- **Azotémie** : teneur du sang en azote non protéique
- **Biais** (statistique) : une démarche ou un procédé qui engendre des erreurs dans les résultats d'une étude.
- **Biomarqueur** (marqueur biologique) : caractéristique qui est objectivement mesurée et évaluée comme indicateur des procédés biologiques normaux, des procédés pathogènes ou des réactions pharmacologiques à une intervention thérapeutique.
- **Biosurveillance** (biomonitoring) : ensemble de méthodes utilisées pour détecter et mesurer la concentration des polluants ou de leurs métabolites (composés de dégradation) au sein des différents niveaux de l'organisation biologique.
- **Cadence** : rythme du travail.

- **Calibration (étalonnage) :** l'étalonnage est un processus documenté où l'instrument de mesure à étalonner est comparé à une valeur connue, généralement à un étalon de référence plus précis.
- **Catabolisme :** phase du métabolisme au cours de laquelle des molécules relativement grosses et complexes sont dégradées en molécules plus petites et plus simples.
- **Chromatographie :** méthode physico-chimique qui sert à séparer les différentes substances présentes dans un mélange
- **Chromogène :** selon la théorie de Witt c'est l'association de chromophore (groupement d'atomes comportant une ou plusieurs doubles liaisons alternées avec le reste de molécule) et d'auxochrome (groupement d'atomes ionisables pouvant changer la fréquence, et donc la longueur d'onde, d'absorption d'un chromophore) dans une molécule de colorant organique. Les chromogènes sont très utilisés en enzymologie et en microbiologie.
- **Cinétique :** vitesse des réactions chimiques
- **Clairance :** la capacité d'un tissu, organe ou organisme de débarrasser un liquide biologique d'une substance donnée
- **Code-barre :** la représentation d'une donnée numérique ou alphanumérique sous forme d'un symbole constitué de barres et d'espaces dont l'épaisseur varie en fonction de la symbologie utilisée et des données ainsi codées.
- **Coefficient de variation (écart-type relatif) :** mesure relative de la dispersion des données autour de la moyenne, calculé par le rapport de l'écart-type à la moyenne
- **Colorimétrie :** Procédé d'évaluation des concentrations des solutions colorées par l'étude de leur couleur.
- **Concordance (statistiques) :** Elle renvoie au fait que deux ou plusieurs mesures indépendantes d'une même grandeur soient égales
- **Corps cétoniques :** déchets du métabolisme des graisses, lorsque celles-ci sont utilisées comme source d'énergie quand les réserves en sucres de l'organisme sont insuffisantes, notamment lors d'un jeûne prolongé. Ils sont donc un témoin de l'utilisation des graisses

- **Débit** : la quantité d'une grandeur qui traverse une surface donnée par unité de temps
- **Dérivation** : synthèse d'un dérivé chimique qui sert à isoler et identifier le précurseur correspondant.
- **Dialyse** : méthode d'épuration du sang à travers une membrane lors d'une insuffisance rénale.
- **Diurèse** : volume d'urine émis en 24 heures
- **Dystrophie musculaire** : ensemble de pathologies congénitales rares caractérisées par une atteinte musculaire appelée dystrophie qui se traduit par une faiblesse musculaire conduisant à leur atrophie (diminution de volume)
- **Eau type I (NCCLS)** : eau débarrassée de tout contaminant organique ou ionique, qu'il soit dissous ou colloïdal, et convenant aux utilisations les plus pointues comme la HPLC.
- **Ecart type** : mesure la dispersion, ou l'étalement, d'un ensemble de valeurs autour de leur moyenne. Plus l'écart-type est faible, plus la population est homogène
- **Elution**: procédé permettant de mettre en solution un composé adsorbé à l'aide d'un solvant nommé l'éluant
- **Enzyme** : protéine catalysant une réaction biochimique
- **Equilibre hydro-électrolytique** : état résultant de la régulation et de la répartition de l'eau et des électrolytes dans l'organisme, notamment en ce qui concerne les liquides extra- et intracellulaires
- **Erreur aléatoire** : elle fait qu'une mesure diffère légèrement de la suivante. Cela provient de changements imprévisibles lors d'une expérience.
- **Erreur d'exactitude (erreur de mesure)**: différence entre la valeur mesurée d'une grandeur et une valeur de référence
- **Erreur systématique** : elle affecte toujours les mesures de la même quantité ou de la même proportion, à condition qu'une lecture soit prise de la même manière à chaque fois

- **Etalon** : solution à concentration définie avec précision (mesurée avec méthode de référence), permet de calibrer l'appareil de mesure chimique et est utilisé comme contrôle d'exactitude.
- **Filtration glomérulaire** : filtration du sang par le glomérule du rein, menant à la formation d'urine primitive
- **Gold standard** (étalon-or) en anglais : ou test de référence est le meilleur test disponible à un moment donné, notamment en médecine (diagnostic) ou en statistique (test d'hypothèse), pour établir la validité d'un fait
- **In vitro** : En milieu artificiel, en laboratoire.
- **Infarctus aigu du myocarde** : nécrose du myocarde provoquée par l'obstruction aiguë d'une artère coronaire. Les symptômes comprennent une gêne thoracique avec ou sans dyspnée, nausées et transpiration
- **Ionogramme** : examen de laboratoire de biologie médicale qui analyse la concentration en électrolytes d'un liquide organique
- **Iso-enzymes** (isozymes) : l'ensemble des formes physiquement distinctes et séparables d'une enzyme au sein d'un être humain
- **Isotopes** : nucléides partageant le même nombre de protons, mais ayant un nombre de neutrons différent.
- **Luminophore** : substance qui, lorsqu'elle subit une excitation, émet de la lumière
- **Lyophilisat** : produit résultant d'une opération de lyophilisation (dessiccation d'un produit préalablement congelé, par sublimation)
- **Matériaux de référence certifiés** : matériaux ou substances utilisés comme étalons, certifiés par des organismes habilités
- **Matrice** (chimie analytique) : tout ce qui constitue l'échantillon, sauf l'analyte.
- **Mesurande** : grandeur que l'on cherche à mesurer
- **Métabolisation** : transformation biochimique d'une substance dans un organisme vivant au cours du métabolisme (dégradation et synthèse organique chez l'être vivant)

- **Métabolomique/ Métabonomique** : sert à l'identification et la quantification non ciblées de tous les métabolites présents dans un échantillon biologique
- **Microalbuminurie** : définie par une excrétion de 30 à 300 mg d'albumine par 24 heures (traduit la présence en quantité anormale d'albumine dans les urine)
- **Parenchyme** : tissu d'un organe qui assure son fonctionnement
- **Patients en hyperfiltration** : en élévation supraphysiologique du DFG
- **Phénotype** : l'ensemble des caractères observables d'un individu
- **Plasma** : partie liquide du sang qui représente environ 55 % de son volume, composée d'eau et contient des lipides (graisses), des hormones, des facteurs de coagulation et plus d'une centaine de protéines dont la principale est l'albumine
- **Prostatectomie** : ablation chirurgicale de la prostate
- **Protéinurie** : présence dans les urines de protéines en quantité anormalement élevée
- **Protocole expérimental** : méthode procédurale prédéfinie dans la conception et la mise en œuvre d'une expérience.
- **Réactif** : espèce chimique, présente dans le milieu réactionnel, dont la concentration tend à diminuer au cours du temps : les réactifs sont consommés, leurs atomes se réarrangent pour former de nouvelles molécules : les produits de cette réaction.
- **Recommandation** : suggestion d'une ligne de conduite par les organismes habilités
- **Robustesse** : mesure d'une méthode d'analyse de sa capacité à supporter sans conséquence de petites variations des paramètres internes à la méthode (pH, débit...)
- **Sarcopénie** : la perte de masse, mais aussi de force musculaires liée à l'âge.
- **Sélectivité (Sensibilité)** : La sélectivité d'une méthode analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composés potentiellement présents.

- **Spécificité** : Une méthode d'analyse est dite « spécifique » lorsqu'elle permet de garantir que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser et de mesurer quantitativement un paramètre physicochimique ou un groupement fonctionnel d'une ou de plusieurs substance(s) dans l'échantillon.
- **Série** : conditions expérimentales aussi représentatives que possible de la variabilité de l'utilisation de la méthode en routine (jour, opérateur, appareillage, etc.)
- **Sérum** : le liquide surnageant obtenu après coagulation et centrifugation du sang dans un tube « sec », c'est-à-dire sans inhibiteur de la coagulation
- **Spectrophotométrie** : méthode d'analyse qui permet de déterminer l'absorbance d'une substance chimique en solution, c'est-à-dire sa capacité à absorber la lumière qui la traverse
- **Spectrorélectométrie** : méthode physique basée sur l'interférence de la lumière blanche sur des couches minces, et est utilisée pour étudier les interactions moléculaires.
- **Spot urinaire** : mesure de la concentration des électrolytes et de l'osmolalité d'un échantillon d'urines. Il permet d'orienter le diagnostic étiologique et la stratégie thérapeutique des troubles électrolytiques et acido-basiques
- **Stabilité** : propriété d'une molécule de conserver sa structure moléculaire tridimensionnelle intacte devant des conditions définies.
- **Standardisation** : ensemble des techniques qui ont pour objet de définir les méthodes de dosage aptes à satisfaire des besoins spécifiés.
- **Tampon**: solution qui maintient approximativement le même pH malgré l'addition de petites quantités d'un acide ou d'une base, ou malgré une dilution
- **Terre de Füller** : matériau en argile qui a la capacité de décolorer l'huile ou d'autres liquides sans traitement chimique
- **Thalidomide** : médicament utilisé durant les années 1950 et 1960 comme sédatif et anti-nauséeux, notamment chez les femmes enceintes. Il a été découvert qu'il est à l'origine de graves malformations congénitales
- **Traçabilité du résultat au SI** : l'équipement de mesure est étalonné par rapport à un étalon, qui a été étalonné par rapport à un étalon, qui a été étalonné par rapport à un étalon, etc., qui a été étalonné par rapport à l'étalon national ou international

- **Traitement de suppléance rénale** : il remplace la fonction non endocrine rénale chez le patient souffrant d'insuffisance rénale et est parfois utilisé pour certaines formes d'intoxication. Les techniques comprennent l'hémofiltration et hémodialyse continues, l'hémodialyse intermittente et la dialyse péritonéale.
- **Transplantation** : greffe d'un organe entier dans un autre organisme.
- **Xénobiotique** : substance présente dans un organisme vivant mais qui lui est étrangère : il n'est ni produit par l'organisme lui-même, ni par son alimentation naturelle

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les reins sont des organes appartenant au système urinaire, sécréteurs de l'urine. Ils sont situés de part et d'autre du rachis, dans la région lombaire contre la paroi postérieure de l'abdomen.[1]. Ils assurent plusieurs fonctions telles que le maintien de l'équilibre hydro-électrolytique, l'élimination des déchets de l'organisme (urée, créatinine, acide urique) et des substances chimiques exogènes (toxiques et xénobiotiques), la production de rénine, d'EPO, VitD, PG, et de kinine.[2]. Cependant, certaines situations ou certaines pathologies vont entraîner une altération de la fonction rénale conduisant à l'IRA voire par la suite à l'insuffisance rénale chronique (IRC) (conséquence de l'IRA ou d'un autre mécanisme)[3]

L'insuffisance rénale est l'incapacité des reins à épurer le rein de manière efficiente. Cette insuffisance est définie par l'estimation du débit de filtration à travers le glomérule du sang affluant à travers la membrane basale qui est normalement estimé à 125 ml/min/1.73m² chez l'homme [2], en France, plus de 5% de la population souffrent de l'insuffisance rénale chronique et sa prévalence ne cesse d'augmenter [4], en plus, 35 % des patients dialysés n'ont pas bénéficié à temps d'une prise en charge néphrologique, alors qu'un dépistage précoce aurait pu éviter à la maladie d'arriver au stade terminal de l'insuffisance rénale, puisqu'un traitement et un suivi adaptés, ainsi que le respect de règles d'hygiéno-diététiques, peuvent notablement en ralentir la progression [5].

La mortalité très élevée de l'IRC, la baisse de la qualité de vie des patients et le coût des traitements font qu'elle constitue une charge lourde à l'échelle individuelle et sociale [6].

La fonction rénale est évaluée par des examens statiques au niveau du sang et des urines tels que : l'ionogramme, la créatinine, l'urée, diurèse, chimie des urines, bisces examens évaluent l'efficacité de la filtration (élimination de métabolites) ; aussi, l'étude de la protéinurie évalue l'intégrité du filtre glomérulaire [7].

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) étant le meilleur reflet de la fonction globale du rein[8], il est le plus souvent estimé à partir d'un marqueur endogène éliminé par les reins, principalement la créatinine [7] qui se définit comme étant le catabolite anhydrique terminal physiologiquement inerte de la créatine musculaire [9], donc sa production est constante, elle est filtrée au niveau du rein, elle n'est pas réabsorbée mais elle est sécrétée au niveau tubulaire[10]. Cependant, ce marqueur est souvent sujet à de multiples limitations à savoir les variations physiologiques telles que l'âge, le poids, le sexe mais aussi les interférences de dosage [2], la masse musculaire, la situation métabolique (anabolisme, catabolisme) et les apports alimentaires. Malgré tout ça, le dosage de la créatinine sérique est à ce jour le meilleur biomarqueur de cette pathologie souvent asymptomatique [5].

La relation entre la concentration de la créatinine et le DFG est une hyperbole inverse. Les formules d'estimation de ce dernier intègrent, à différents degrés, des facteurs influençant directement la production de la créatinine ou des facteurs influençant la masse musculaire (âge, sexe, poids, origine ethnique). On utilise la formule de Cockcroft et Gault (CG) pour l'estimation de la clairance de créatinine et les formules : Modification of Diet in Renal Disease (MDRD), Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI), Schwartz, et Berlin Initiative Study (BIS I) pour l'estimation du DFG [1].

Il est donc indispensable de disposer des mesures fiables pour pouvoir établir un diagnostic le plus précoce possible, assurer le suivi et adapter le traitement des patients [11].

INTRODUCTION

On trouve différentes méthodes du dosage de la créatinine qui peuvent être classées globalement en trois groupes : les méthodes colorimétriques , enzymatiques et chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse IDMS [11].

Les méthodes colorimétriques les plus utilisées pour la détermination de la créatininémie reposent sur la réaction de Jaffé [11] qui en milieu alcalin, la créatinine forme avec le picrate un complexe jaune orangé dont la vitesse de formation de la coloration est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon. Toutefois, des substances « pseudo -chromogènes » peuvent perturber les résultats en donnant des concentrations de créatinine plus élevées que la réalité [12]. Cette méthode a été optimisée (en termes de spécificité, rapidité et adaptabilité) par le développement d'une méthode cinétique en 2 points. La spécificité de la réaction de Jaffé est améliorée par une mesure en cinétique de l'augmentation de densité optique à 510 nm (réaction de Jaffé modifiée). Malgré cette précaution, la méthode reste peu spécifique et sensible à de nombreuses interférences [2] .

Concernant les méthodes enzymatiques, le test enzymatique pour la créatinine implique une série de réactions enzymatiques comprenant la conversion enzymatique par la créatininase de la créatinine en créatine qui est aussi convertie en sarcosine par la créatine amidinohydrolase (créatinase), suivie de l'oxydation de la sarcosine par la sarcosine oxydase produisant du peroxyde d'hydrogène. En présence de peroxydase, le peroxyde d'hydrogène est quantifié à 550nm par la formation d'une teinte colorée[2]. Cette méthode est plus sensible et sélective que la précédente mais son principal inconvénient c'est qu'elle est coûteuse ce qui limite son utilisation.

Les méthodes chromatographiques sont des méthodes de références mais on les trouve que dans quelques laboratoires hautement spécialisés répartis à travers le monde en raison du coût et de la complexité de la méthode [12], d'un autre côté, on trouve que les méthodes enzymatiques sont traçables à l'IDMS et présentent une meilleure performance analytique avec moins d'interférence avec d'autres substances tels que la bilirubine par rapport aux méthodes colorimétriques [13].

Mais pour des raisons économiques et techniques, la plupart des laboratoires actuels utilisent la méthode cinétique de Jaffe[14] malgré qu'on sache pas si elle présente la même performance que celle de la méthode enzymatique.

L'objectif de cette étude est de comparer principalement entre les deux méthodes du dosage de la créatinine : la méthode de Jaffé modifiée et la méthode enzymatique, évaluer secondairement leurs performances analytiques ainsi que les DFGe qui en résultent et enfin déceler les situations où la méthode enzymatique semble la plus utile à utiliser.

CHAPITRE I

CREATININE ET

FONCTION

RENALE

1 La créatinine :

1.1 Historique :

Le mot créatinine dérive de la substance organique la créatine, celle-ci est découverte et nommée pour la première fois en 1832 par le chimiste français *Michel-Eugène Chevreul* (1786–1889) après son extraction à partir de la viande, d'où vient sa nomination du grec ancien κρέας, kreas qui signifie : viande [15] [16].

Figure 1 : La créatine



Cependant, le terme créatinine a été probablement employé la première fois en 1847 par le chimiste allemand *Justus von Liebig* pour décrire le produit de déchet trouvé dans l'urine et obtenu après avoir chauffé de la créatine en présence de sels minéraux [16][9]

Au milieu des années 1920, les travaux des physiologistes danois *Rehberg* et *Holten* ont permis l'utilisation de la créatinine, et plus précisément de la clairance de créatinine, pour étudier la fonction rénale mais d'abord avec un apport de la créatinine exogène pour une mesure plus facile. Ce n'était qu'à la fin des années 1930 qu'on a approuvé la créatinine endogène comme biomarqueur à intérêt diagnostique [9].

1.2 Origine et synthèse :

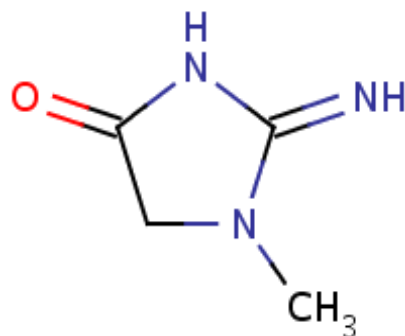


Figure 2: Structure de la créatinine

Tableau 1: Les caractéristiques principales de la créatinine [17][18][19]

Nom IUPAC	2-amino-1-méthyl-5H-imidazol-4-one
Synonymes	Créatine anhydre 1-Méthylglycocyanidure 1-Méthylhydantoin-2-imide 2-amino-1,5-dihydro-1-méthyl-4H-Imidazol-4-one 2-Amino-1-méthylimidazol-4-one
Autres appellations	Créatinine (En) Creatinina (Es) Kreatinin (Al)
Formule brute	C₄H₇N₃O
Masse molaire	113.12 g/mol
Sécurité chimique	Irritant (yeux, peau et poumons)
Localisation cellulaire	Cytoplasme
Localisation tissulaire	Muscle squelettique principalement
Rôle industriel	Cosmétique : agent revitalisant pour la peau Industrie pharmaceutique

- Créatine, créatinine et créatininémie :

La créatine ou l'acide α -méthylguanidino-acétique est un dérivé d'acide aminé naturel non protéinogène, présent essentiellement dans les fibres musculaires [5][20].

L'origine de la créatine est double : exogène (alimentaire) qui après son absorption intestinale et sa diffusion dans le sang, elle se localise dans les tissus : muscle strié, myocarde et cerveau surtout [20] [21].

La créatine endogène est synthétisée en deux étapes : la première réaction (transamidation par l'arginine-glycine transaminase), qui aboutit à la glycocyanine (acide guanidino-acétique) à partir du glycofolle (glycine) et de l'arginine, a lieu dans le rein ; la seconde (transméthylation grâce à la S-adenosylméthionine par l'intermédiaire de la guanidinoacétate méthyl transférase) dans le foie; sa destinée est ensuite la même que celle de la créatine exogène[21][22]

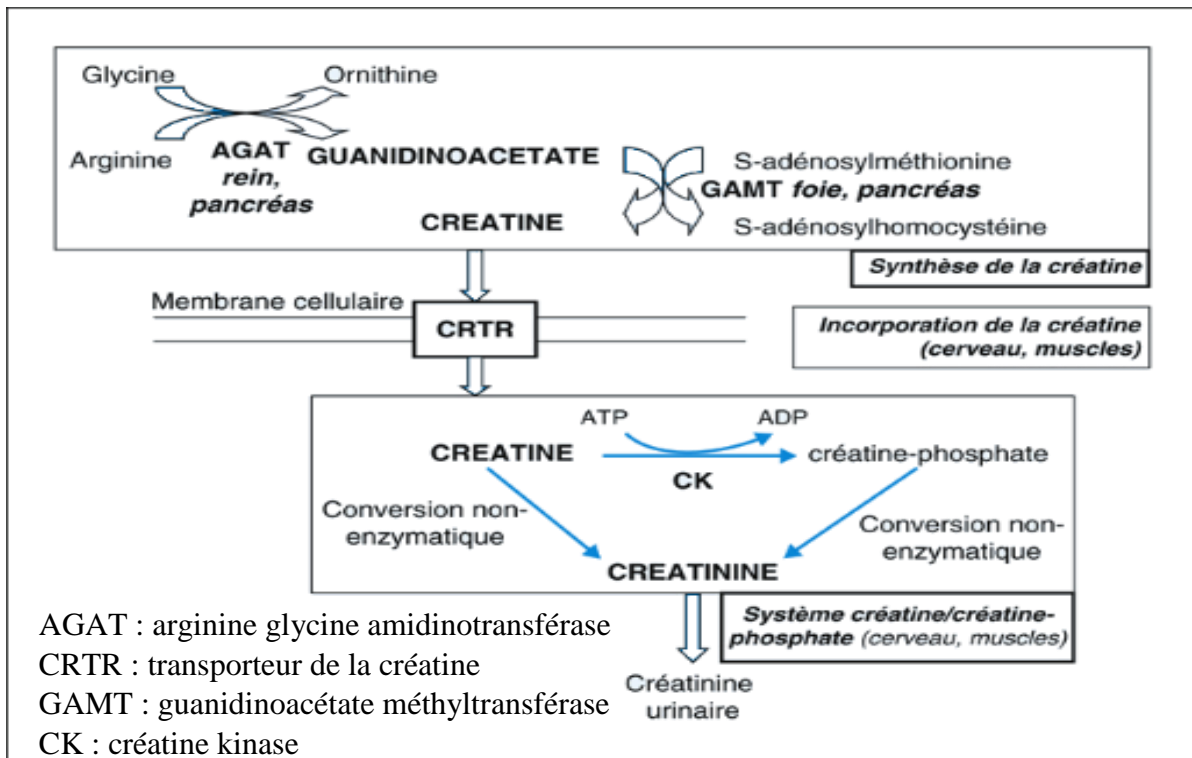


Figure 3: voie métabolique de la créatine

Sa phosphorylation catalysée par la créatine kinase (précisément par l'isoenzyme CK-MM du muscle squelettique), va produire du PCr (forme majeure de stockage d'énergie à moyen terme) qui va servir par réaction inverse, comme donneur du phosphore, nécessaire pour la conversion de l'ADP en ATP destiné à fournir l'énergie suffisante pour une contraction musculaire lors d'un effort [23] [24].

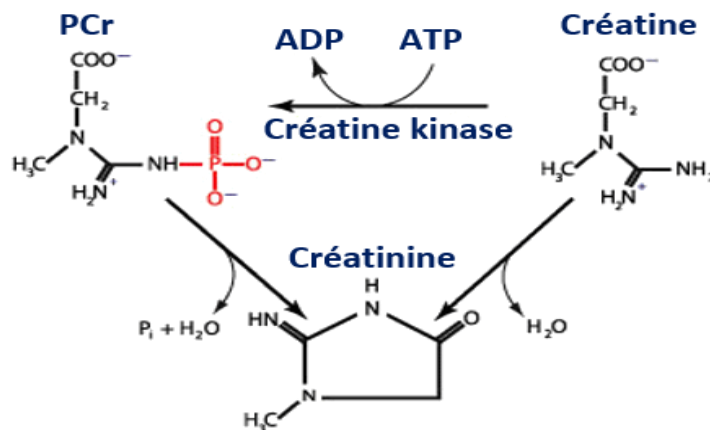


Figure 4: métabolisme de la créatine

Chaque jour, et de façon constante pour chaque individu, environ 1.7% de la créatine musculaire se dégrade (par réaction de déshydratation) et forme de la créatinine : une substance azotée cristalline et blanche, fortement basique et physiologiquement inerte (ni métabolisée, ni utilisée par notre corps) et donc éliminée régulièrement en grande partie dans les urines après filtration glomérulaire sans qu'elle ne soit réabsorbée au niveau tubulaire [5][25].

CHAPITRE I : CREATININE ET FONCTION RENALE

Cette créatininurie est le témoin direct de la masse musculaire globale et reflète donc le poids « maigre » du sujet, abstraction faite de sa graisse.

La créatininémie (concentration de la créatinine dans le plasma) présente donc un marqueur du suivi de la fonction rénale et aujourd'hui, c'est toujours l'un des dosages biologiques les plus prescrits en pratique clinique [9].

La créatininémie et la créatininurie sont dépendantes de la masse musculaire donc : de l'âge, du sexe, du poids, de la taille et de l'ethnie [26].

2 Les reins :

2.1 Rappel anatomo-physiologique :

- Anatomie :

Les reins sont deux organes appartenant au système urinaire, de couleur brune violacée[27], ayant une forme de haricot, localisés dans l'abdomen de part et d'autre de la colonne vertébrale.[3]

Chaque rein pèse environ 125 à 175 g chez l'homme et 115 à 155 g chez la femme, avec une longueur de 11 à 14 cm, 6 cm de largeur et 4 cm d'épaisseur, il est couvert par la capsule fibreuse, qui protège et aide au maintien de la forme. Cette capsule est protégée par le coussinet adipeux rénal [28].

Une coupe longitudinale du rein (figure 1) montre un sinus rénal et deux couches de tissus[28]:

-La médullaire profonde centrale : formée par les pyramides de Malpighi[29][30], chaque pyramide contient plus d'un million d'unités fonctionnelles appelées néphrons [3].

- Le cortex périphérique : coiffe la base des pyramides de Malpighi et s'insinue entre les pyramides constituant les colonnes de Bertin [29][30].

Le sinus rénal inclut le bassinet qui est une cavité collectrice d'urine reçue à travers les calices[2], l'urine s'écoule ensuite vers l'uretère, la vessie où sera stockée puis évacuée vers l'urètre[2] [3].

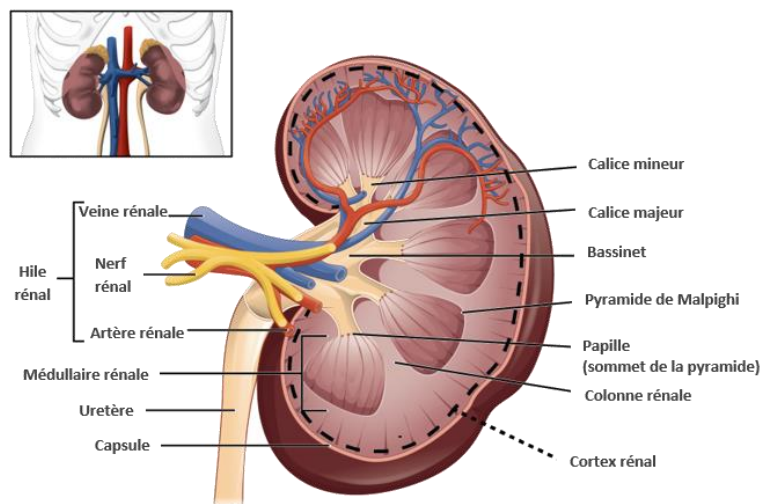


Figure 5: Coupe longitudinale du rein gauche

Le néphron :

C'est l'unité fonctionnelle du rein responsable de production d'urine, chaque néphron est composé du:

- Corpuscule rénal : glomérule + capsule de Bowman : Il a un rôle capital dans la filtration du plasma[7].
- Tubule : constitué du tube contourné proximal, de l'anse de Henlé, du tube contourné distal et du tube collecteur du Bellini.[29][3].

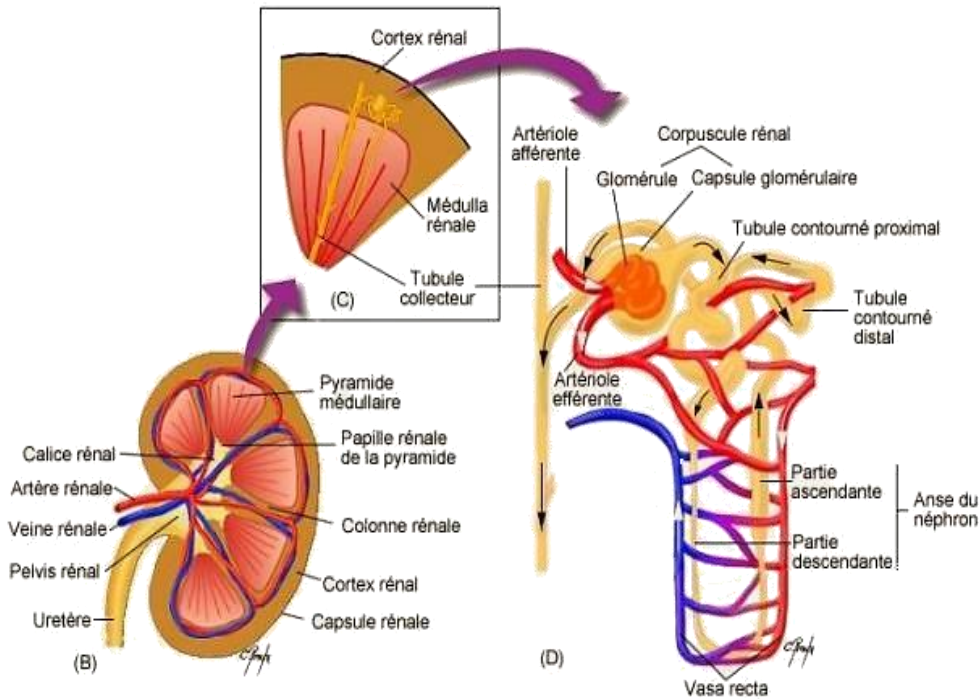


Figure 6: Structure du néphron

- **Physiologie :**

Le rein assure plusieurs fonctions essentielles pour l'organisme :

- Elimination des déchets de l'organisme (urée, créatinine, acide urique) et des substances chimiques exogènes (toxiques et xénobiotiques)[2], cette épuration sélective est la fonction rénale la plus connue, elle est assurée par la filtration glomérulaire [1]. Les reins reçoivent un débit de 1,2 litre de sang par minute, ce qui représente environ le cinquième du débit sanguin qui émerge de la pompe cardiaque[2].
- Maintien de l'équilibre hydro-électrolytique de l'organisme [2].
- La sécrétion de rénine, une enzyme qui participe à la régulation de la pression artérielle.
- La sécrétion d'érythropoïétine (EPO), une hormone qui stimule la formation des globules rouges au niveau de la moelle osseuse.
- La transformation de la vitamine D en sa forme active [12].

2.2 Pathologies :

- L'insuffisance rénale aigue (IRA) :

Elle est définie par une baisse rapide de l'épuration rénale survenant sur plusieurs heures ou plusieurs jours, entraînant des perturbations métaboliques avec accumulation des produits azotés (urée, créatinine, acide urique) et plus d'une centaine de toxines qui à grande concentration, peuvent avoir des conséquences létales à court terme[31][32].

Etiologies :

***Pré-rénale** → IRA fonctionnelle : conséquence de l'hypo-perfusion rénale suite à différentes causes.

***Rénale** → IRA organique (parenchymateuse) : suite à des lésions anatomiques des différentes structures du rein : les plus fréquentes sont les nécroses tubulaires aiguës (NTA)

***Post-rénale** → IRA obstructive : due à un obstacle bilatéral sur les voies excrétrices, qui annule la filtration glomérulaire

Les IRA fonctionnelles et les IRA organiques sont de loin les plus fréquentes [33].

- L'insuffisance rénale chronique :

L'IRC est définie indépendamment de sa cause par la présence, pendant plus de 3 mois, de marqueurs d'atteinte rénale ou d'une baisse de la capacité des reins à assurer leurs fonctions, objectivée par une diminution progressive et irréversible du débit de filtration glomérulaire (DFG) au-dessous de 60 ml/min/1,73 m² [12] [34] [35]. Elle est silencieuse mais conduit à diverses complications, une anémie et des troubles cardiovasculaires et ceci suite à la destruction de plus de 50% du parenchyme rénal [34] [36].

L'évolution vers le stade terminal fait appel à un traitement de suppléance par dialyse ou transplantation rénale [12].

Plusieurs maladies rénales causent l'insuffisance rénale, soit de façon réversible ou irréversible, citant Les maladies glomérulaires, Les néphropathies interstitielles chroniques, Les maladies vasculaires et Les maladies congénitales et héréditaires (comme la maladie polykystique) [37]

2.3 Place de la créatinine dans l'exploration de la fonction rénale :

2.3.1 Rôle dans l'évaluation de la fonction rénale globale :

Cette évaluation se fait de façon biologique (dans le sang et les urines) statiquement ou dynamiquement (cette dernière vise principalement l'exploration de la fonction tubulaire). Elle est confrontée à une évaluation radiologique (permettant de mesurer le rein dans ses trois dimensions) [7].

2.3.1.1 Examens biologiques sanguins :

- Dosage de l'urée:

Toute diminution de la filtration glomérulaire entraîne une augmentation de l'urémie avec diminution de l'urée urinaire, cependant, d'autres facteurs non rénaux entraînent des variations importantes telles que la diurèse, l'apport azoté exogène et le catabolisme protidique endogène [2] [32].

L'urémie est généralement étudiée conjointement au créatininémie (ratio urée/créatinine) pour affiner le diagnostic d'une azotémie post-rénale ou pré-rénale [32].

- Dosage de la créatinine plasmatique :

C'est le paramètre le plus communément utilisé pour évaluer la fonction rénale [33], une créatininémie élevée est souvent associée à une pathologie rénale [34].

• **Autres paramètres de l'évaluation de la fonction rénale globale :**

- Dosage des ions (ionogramme) : Na^+ , K^+ , Cl^- et HCO_3^-

Il peut être prescrit pour diagnostiquer les maladies qui perturbent l'équilibre hydro-électrolytique des liquides de l'organisme. Un ionogramme urinaire est souvent prescrit en complément d'un ionogramme sanguin pour préciser l'état de la fonction rénale [38].

- La calcémie, la phosphorémie :

Au cours de l'IRC, on note une hypocalcémie avec une hyperphosphorémie suite au désordre métabolique engendré[39].

2.3.1.2 Examens biologiques urinaires :

- La diurèse :

C'est le volume d'urine excrétée, mesuré généralement sur une période de 24h [40], sa diminution rapide est en faveur d'une insuffisance rénale aigue [41].

- La protéinurie et la microalbuminurie :

La protéinurie peut être transitoire et bénigne ou, à l'inverse, elle peut être révélatrice d'une maladie rénale et associée au risque cardiovasculaire [42].

La microalbuminurie permet le dépistage précoce des néphropathies diabétiques [43] [42].

2.3.2 Rôle dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire :

2.3.2.1 Notion du DFG :

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) (Glomerular filtration rate GFR) [2] est le volume de liquide filtré par le rein par unité de temps. C'est probablement le meilleur reflet de la fonction globale du rein [7].

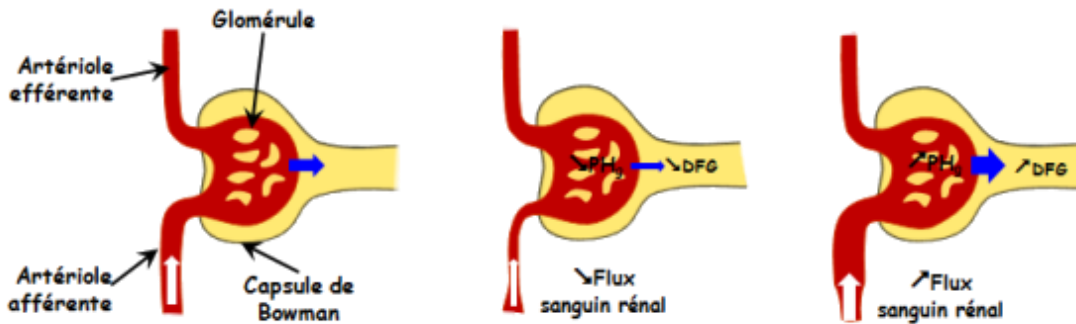


Figure 7: Le débit de filtration glomérulaire

-Calcul du DFG :

Il n'est pas possible de mesurer physiquement à l'échelle glomérulaire le DFG mais sa détermination se passe indirectement en faisant intervenir la clairance rénale d'une substance endogène ou exogène (sa quantité éliminée par voie urinaire par unité de temps) [7] [41].

Pour qu'elle soit égale au DFG, la clairance d'une substance donnée doit répondre aux critères suivants :

- Filtration glomérulaire libre, sans liaison aux protéines plasmatiques, sans intervention des tubules rénaux (sécrétion, réabsorption, métabolisation) et sans élimination extra-rénale.
- Ne modifie pas la filtration glomérulaire.
- Faible variation intra-individuelle avec une production et concentration plasmatique constantes en l'absence de modification du DFG (dans le cas de marqueur endogène).
- Non toxique (dans le cas de marqueur exogène).

Il n'existe pas de substance endogène remplissant intégralement ces conditions et les marqueurs de référence sont exogènes [41] [2].

Le DFG normal dépend de la taille et du poids, on normalise la valeur du DFG par la surface corporelle moyenne (1.73 m²), il s'exprime alors en ml/min/1.73m² [7].

Différents moyens sont utilisés pour l'estimer :

a. Dosage de l'inuline (gold standard) :

L'inuline est un polymère du fructose de petit poids moléculaire qui a les caractéristiques de la substance « idéale », sa clairance urinaire reste la référence à laquelle sont comparées et validées toutes les autres techniques de mesures du DFG malgré le coût et la complexité de la méthode [41].

CHAPITRE I : CREATININE ET FONCTION RENALE

- Autres substances exogènes :

EDTA marqué au ^{51}Cr , Iothalamate radioactif marqué à l'iode ^{125}I , Iohexol (produit de contraste iodé).

Ces méthodes sont longues et de réalisation délicate du fait de la nécessité de plusieurs prises de sang souvent, des recueils d'urines... Elles sont réservées aux cas complexes ou discordants lorsque les estimations ne sont pas fiables ou mises en échec [30].

b. La cystatine C :

C'est une protéine de 122 acides aminés d'un poids moléculaire de 13 KDa, un puissant inhibiteur des protéases à cystéine produite dans toutes les cellules nucléées. Elle est présentée comme un marqueur alternatif de la créatinine pour l'évaluation de la fonction rénale, en particulier dans les populations où la relation de la créatinine à la masse musculaire rend ce paramètre particulièrement inopérant [27] [3].

c. Clairance de la créatinine (ClCr) :

La clairance rénale d'une substance est le volume du sérum totalement épuré de cette substance lors de son passage par le rein, elle est égale au DFG si cette substance n'est pas sécrétée, ni réabsorbée dans les tubules. Le débit filtré est alors égal au débit excrété [9].

La clairance de la créatinine peut être déterminée directement par la mesure de la concentration plasmatique et urinaire de créatinine ainsi que le débit précis urinaire sur 24 heures. En fait, la principale cause d'erreur de cette mesure est liée aux erreurs de recueil urinaire [42], cette clairance est exprimée en mL par min [9].

La relation entre la concentration de créatinine et le DFG est une hyperbole inverse [8].

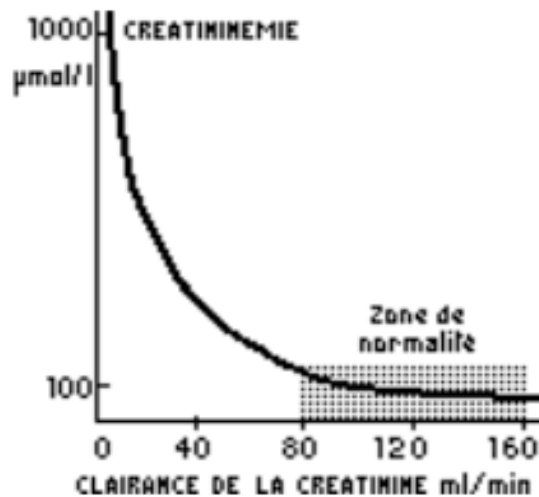


Figure 8: Relation entre la créatinine sérique et sa clairance urinaire

CHAPITRE I : CREATININE ET FONCTION RENALE

- La formule classique :

La clairance de la créatinine endogène appelée aussi clairance mesurée a été longtemps l'examen de référence d'évaluation de la fonction rénale. Elle repose sur la formule classique des clairances rénales :

$$\text{Clairance} = \frac{U \cdot V}{P}$$

- Où
- U: concentration urinaire en créatinine ($\mu\text{mol/L}$);
 - V: débit urinaire en L/j
 - P: concentration sérique en créatinine ($\mu\text{mol/L}$) [2].

Elle nécessite donc un recueil des urines des 24 heures pour déterminer le débit urinaire

$$\begin{aligned} \text{Clairance de la créatinine (ml/min)} &= \frac{\text{Créat urines } (\mu\text{mol/l}) \times \text{Volume urinaire (ml)}}{\text{Créat sérum } (\mu\text{mol/l}) \times \text{Durée de collecte (min)}} \\ &= \frac{U \times 1000 \times V}{P \times 1440} \end{aligned}$$

La clairance de la créatinine (Ccr) chez un sujet normal est d'environ 120 ± 20 ml/min [44].

. Cas nécessitant la mesure de la clairance de la créatinine :

Compte tenu de multiples causes d'erreur tel que le recueil urinaire incomplet [2] et l'existence des arguments « analytiques », en plus des arguments physiologiques limitant l'usage de la clairance de créatinine ,tels que la grande variabilité interindividuelle et intra-individuelle de cette mesure [9], la clairance de la créatinine n'est plus utilisée pour évaluer la fonction rénale [2] que pour certains cas tels que les patients présentant une masse musculaire particulièrement diminuée (anorexie, paraplégie, amputation)[9] et la femme enceinte où les autres formules sont encore discutées [2].

Tableau 2 : Cas où la créatinine ne semble être utilisée [45]

Circonstances cliniques dans lesquelles la mesure de la clairance semble nécessaire pour estimer le DFG
Les extrêmes d'âge et de la taille du corps
Grossesse
Malnutrition sévère et obésité
Pathologies du muscle squelettique
Paraplégie ou quadriplégie
Régime végétarien
Changement rapide de la fonction rénale
Avant le dosage des médicaments à excrétion rénale avec une toxicité significative
Avant le don du rein
Recherches cliniques avec un DFG comme premier résultat

CHAPITRE I : CREATININE ET FONCTION RENALE

d. Estimation de la clairance de la créatinine :

Actuellement, les néphrologues utilisent des formules prédictives qui cherchent à estimer le DFG à partir de la seule concentration plasmatique de la créatinine et de différentes données phénotypiques des individus [1], ces formules mathématiques ont pour objectif l'estimation du DFG en réduisant les limites intrinsèques des marqueurs endogènes, en particulier celui de la créatinine plasmatique [7].

Les autres variables intégrées dans ces équations et qui expliquent la variance du DFG sont démographiques: âge, sexe, ethnie et anthropométriques: poids et taille [46].

- Formule de COCKCROFT et GAULT :

Elle estime la clairance de la créatinine et non le DFG [25] et donne une estimation plus précise de la fonction rénale, par rapport à la créatinine sérique seule, car elle introduit trois paramètres permettant d'apprécier la masse musculaire : le poids, l'âge et le sexe [46]. Elle a été établie à partir de dosages de créatininémie non standardisée IDMS [25], elle a été validée par comparaison avec des clairances mesurées dans les urines des 24 heures [5].

Formule de Cockcroft et Gault :

$$\text{Clairance (mL/min)} = [(K \times (140 - \text{âge}) \times \text{poids}) / \text{SCr}]$$

Depuis 2002, l'HAS recommande de normaliser la formule de Cockcroft à la surface corporelle pour améliorer la performance de prédiction [47] :

$$\text{Clairance (mL/min/1,73 m}^2) = [(K \times (140 - \text{âge}) \times \text{poids}) / \text{SCr}] \times (1,73 / \text{SC})$$

K = 1,23 pour les hommes ;

SCr : Créatinine sérique ($\mu\text{mol/L}$)

K = 1,04 pour les femmes ;

SC : Surface corporelle (m^2)

- Formule du MDRD:

Version simplifiée (chez l'homme) :

$$\text{DFG (ml/mn)} = 186 \times (\text{SCr } (\mu\text{mol/l}) \times 0,0113)^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203}$$

× 1,21 pour les sujets d'origine africaine (African American)

× 0,742 pour les femmes

× 0,95 si le dosage de la créatinine est calibré ID-MDS *

Dans sa version complète, les facteurs Urée et Albuminémie sont inclus dans l'équation.

La formule du MDRD a été largement validée pour les patients entre 18 et 70 ans. Elle est probablement valable aussi pour l'estimation du débit de filtration glomérulaire au-delà de 70 ans. L'équation ne requiert pas le poids. Elle est normalisée pour 1,73 m^2 (surface corporelle moyenne chez l'adulte)[48].

CHAPITRE I : CREATININE ET FONCTION RENALE

- Formule de CKD-EPI :

Depuis 2012, la Haute Autorité de Santé (HAS) préconise d'utiliser plutôt l'équation de CKD-EPI pour évaluer directement le DFG, différentes études ayant montré qu'elle conduisait à des résultats plus fiables que ceux obtenus via la formule de Cockcroft et Gault [24]. Cette formule a été mise au point à partir de DFG mesurés par une méthode de référence (clairances isotopiques) et des caractéristiques cliniques et biologiques (âge, sexe, race, créatinine) de plus de 8000 patients inclus dans différentes études [6].

Formule CKD-EPI:

Pour :

	Africains	(mg/dl)	
Femmes	≤0,7		$GFR = 166 \times \left(\frac{\text{créat}}{0,7}\right)^{-0,329} \times (0,993)^{\text{âge}}$
	>0,7		$GFR = 166 \times \left(\frac{\text{créat}}{0,7}\right)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{âge}}$
Hommes	≤0,9		$GFR = 163 \times \left(\frac{\text{créat}}{0,9}\right)^{-0,411} \times (0,993)^{\text{âge}}$
	>0,9		$GFR = 163 \times \left(\frac{\text{créat}}{0,9}\right)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{âge}}$
Autres Femmes	≤0,7		$GFR = 144 \times \left(\frac{\text{créat}}{0,7}\right)^{-0,329} \times (0,993)^{\text{âge}}$
	>0,7		$GFR = 144 \times \left(\frac{\text{créat}}{0,7}\right)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{âge}}$
Hommes	≤0,9		$GFR = 141 \times \left(\frac{\text{créat}}{0,9}\right)^{-0,411} \times (0,993)^{\text{âge}}$
	>0,9		$GFR = 141 \times \left(\frac{\text{créat}}{0,9}\right)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{âge}}$ [48]

L'équation peut être exprimée par une équation unique:

$$\text{DFG (ml/min/1,73m}^2\text{)} = 141 \times \min\left(\frac{\text{SCr}}{K,1}\right)^\alpha \times \max\left(\frac{\text{SCr}}{K,1}\right)^{-1,209} \times 0,993^{\text{Age}} \times 1,018 \text{ (si } \varphi\text{)} \times 1,159_{\text{(race noire)}}$$

Avec SCr : Créatinine sérique (mg/dl)

K: 0,7 pour les femmes et 0,9 pour les hommes

α: - 0,329 pour les femmes et -0,411 pour les hommes

- (min) indique le minimum de PCr/K ou 1, (max) indique le maximum de PCr/K ou 1

NB: La créatinine sérique est en μmol/L [8].

CHAPITRE I : CREATININE ET FONCTION RENALE

- Formule de BIS I et BIS II :

Formule élaborée en 2010 pour les sujets de plus de 70 ans [26], elle est basée sur la créatinine, mais étudiée et idéalement validée dans des populations spécifiques. Elle a été développée à partir d'une population de sujets de plus de 70ans, La méthodologie de cette étude est extrêmement rigoureuse, et par bien des aspects, plus rigoureuse que celle utilisée pour l'équation CKD-EPI [7].

BIS1:

$$\text{DFG (ml/min/1,73m}^2\text{)} = 3736 \times \text{SCr (mg/dl)}^{-0.87} \times \text{âge}^{-0.95} \times (0.82 \text{ si femme})$$

BIS2 :

$$\text{DFG (ml/min/1,73m}^2\text{)} = 767 \times \text{Cys C(mg/dl)}^{-0.61} \times \text{SCr (mg/dl)}^{-0.40} \times \text{âge}^{-0.57} \times (0,87\text{si femme})[12].$$

Cys C : concentration en cystatine C SCr : créatinine sérique

- Formule de SCWARTZ :

C'est la formule la plus utilisée pour calculer le DFGe dans la population pédiatrique[49].

Formule de Schwartz (Schwartz et al, 1976) :

$$\text{DFGe (mL/min)} = [\text{K} \times \text{taille}] / \text{SCr (mg/dl)}$$

K = 0,35 si âge < 1 an et poids < 2,5 kg

K = 0,55 si âge > 13 ans et sexe féminin

K = 0,45 si âge < 1 an et poids > 2,5 kg

K = 0,7 si âge > 13 ans et sexe masculin

K = 0,55 si âge compris entre 2 et 13 ans

Age (années) ; Poids (kg) ; SCr: Créatinine sérique.

Les résultats obtenus montraient une surestimation du DFG par la formule de Schwartz, Une analyse de régression linéaire a conduit à développer une équation combinant la créatininémie, la cystatine C, et l'urée, en se basant également sur le sexe et la taille [14]

$$\text{DFG} = 39,8 \left(\frac{\text{taille (m)}}{\text{Scr (mg/dl)}} \right)^{0,456} \left(\frac{1,8}{\text{cystatin C (mg/L)}} \right)^{0,418} \times \left(\frac{10,71}{\text{Urée}} \right)^{0,079} \times 1,076^{\text{si garçon}} \times \left(\frac{\text{taille (m)}}{1,4} \right)^{0,179}$$

DFG (mL/min) [50] .

Tableau 3:caractéristiques des différentes formules [7]

Formule *	Caractéristiques
<i>Cokcroft-Gault</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ N'est pas ajustée à la surface corporelle. ▪ Sous-estimation : patient âgé ▪ Surestimation : patient obèse, sujet jeune ayant une diminution du DFG, cirrhose hépatique, maladie rénale avancée, population générale d'âge moyen.
<i>MDRD</i>	<p>MDRD seulement</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ MDRD ne s'applique pas à la population sans IRC, aux jeunes patients avec diabète de type 1 sans microalbuminurie ou aux personnes sélectionnées pour un don de rein. ▪ Non validée chez les >85 ans.
<i>CKD-EPI</i>	<p>CKD-EPI seulement</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Plus précise que MDRD, en particulier chez les patients avec DFG élevé >60 mL/min/1.73 m². <p>MDRD et CKD-EPI</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Surestimation : IMC faible, cirrhose hépatique, régime végétarien, maladie rénale avancée, nanisme, amputation et amyotrophie. ▪ Sous-estimation chez les patients ayant une hypertrophie musculaire ▪ Non-validée : <18 ans, les femmes enceintes et certains groupes ethniques (p.ex, hispaniques)

CHAPITRE I : CREATININE ET FONCTION RENALE

2.3.3 Rôle dans la classification de l'insuffisance rénale :

2.3.3.1 Cas de l'insuffisance rénale aigüe :

L'IRA est une élévation significative et récente (< 1 mois) de la créatininémie

Tableau 4: Classification de l'IRA [51]

Stade	Selon créatinine sérique/TFG	Selon diurèse
KDGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes)		
1	Augmentation créatinine sérique 1.5-1.9 × la valeur de base sur 1-7 jours ou augmentation ≥ 26.5 μmol/l (≥0.3 mg/dl) sur 48 heures	<0.5 ml/kg/heure sur 6-12 heures
2	Augmentation créatinine sérique 2-2.9 × la valeur de base	<0.5 ml/kg/heure sur >12 heures
3	Augmentation de 3 × la valeur de base ou augmentation de la créatinine sérique > 354 μmol/l ou dialyse	<0.3 ml/kg/heure pendant >24 heures ou anurie sur > 12 heures
AKIN (Acute Kidney Injury Network)		
1	Augmentation créatinine sérique 1.5-1.9 × la valeur de base ou augmentation de la créatinine sérique > 26.5 μmol/l (>0.3 mg/l) sur 48 heures	<0.5 ml/kg/heure sur 6 heures
2	Augmentation créatinine sérique 2-2.9 × la valeur de base	<0.5 ml/kg/heure sur 12 heures
RIFLE (Risk, Injury, Loss, of function, End-stage renal disease)		
R	Augmentation de la créatinine sérique >1.5 × ou diminution du TFG > 25% de la valeur de base (sur 1-7 jours)	<0.5 ml/kg/heure sur 6-12 heures
I	Augmentation de la créatinine sérique >2 × ou diminution du TFG > 50% de la valeur de base	<0.5 ml/kg/heure sur >12 heures
F	Augmentation de la créatinine sérique >3 × ou diminution du TFG > 75% de la valeur de base ou créatinine sérique > 354 μmol/l (≥4 mg/dl) avec une augmentation aigüe d'au minimum 44 μmol/l (0.5 mg/dl)	<0.3 ml/kg/heure pendant >24 heures ou anurie > 12 heures
L	IRA persistante = perte complète de la fonction rénale > 4 semaines	
E	IRA terminale (> 3 mois)	

IR: insuffisance rénale ; IRA: insuffisance rénale aigüe ; TFG: taux de filtration glomérulaire.

CHAPITRE I : CREATININE ET FONCTION RENALE

2.3.3.2 Cas de l'insuffisance rénale chronique :

Tableau 5: Classification des stades d'évolution de la maladie rénale [35]

Stade	DFG (ml/mn/1.73m²)	Définition
1	≥ 90	Maladie rénale chronique* avec DFG normal ou augmenté
2	entre 60 et 89	Maladie rénale chronique* avec DFG légèrement diminué
3	Stade 3A : entre 45 et 59	Insuffisance rénale chronique modérée
	Stade 3B : entre 30 et 44	
4	entre 15 et 29	Insuffisance rénale chronique sévère
5	< 15	Insuffisance rénale chronique terminale

**Avec marqueurs d'atteinte rénale : albuminurie, hématurie, leucocyturie, ou anomalies morphologiques ou histologiques, ou marqueurs de dysfonction tubulaire, persistant plus de 3 mois (deux ou trois examens consécutifs)*

**Un patient dialysé est classé D sans stade.*

**Un patient transplanté rénal est décrit : T 1, T2, T3, T4, T5 ; selon son DFG [25].*

2.3.4 Autres intérêts de la créatinine :

La créatinine trouve son intérêt aussi comme biomarqueur dans d'autres circonstances : l'infarctus aigu du myocarde IDM, la transplantation hépatique, le dysfonctionnement de l'allogreffe, la dystrophie musculaire, le cancer colorectal [46], la sarcopénie et aussi comme prédicteur d'hémorragée intracrânienne chez les patients ayant reçus une CF-Lvad [47].

De plus, elle trouve sa place dans les programmes de biosurveillance, d'antidopage et de recherche de métabolomique urinaire [46].

CHAPITRE II

LES METHODES DE

DOSAGE DE LA

CREATININE

CHAPITRE II : LES METHODES DE DOSAGE DE LA CREATININE

1. Prélèvement :

Tout échantillon destiné aux analyses biochimiques subit un circuit qui commence depuis la phase de prescription de l'ordonnance par le médecin traitant et qui se termine par le rendu des résultats aux patients par le laboratoire.

Il est fondamental de fournir suffisamment d'informations pour l'identification du patient :

Nom, prénom, âge et sexe du patient	Diagnostic ou signes cliniques (+++++)
Nom du service	Traitement médicamenteux en cours
Nom du médecin demandeur	Examens demandés et nature du prélèvement [52]

1.2. Conditions du prélèvement:

Prélèvement sanguin :

- Patient à jeun de préférence (en dehors d'urgence)
- Sang prélevé sur tube hépariné ou sec (pour la créatininémie)
- À distance des repas et des exercices physiques.
- Eviter un jeun prolongé : la formation des corps cétoniques qui en résulte interfère avec la méthode de dosage.

Prélèvement urinaire :

- Recueil des urines des 24H ou spot urinaire.
- Prédilution des urines [53].

2. Méthodes de dosage utilisées :

La créatinine peut être mesurée dans le sang et les urines [9] par différentes méthodes de dosage, qui peuvent être classées en trois grands groupes :

les méthodes colorimétriques basées sur la réaction de Jaffé, les méthodes enzymatiques et les méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse qui sont beaucoup plus lourdes et coûteuses à mettre en œuvre, pour cette raison, elles ne sont utilisées quasi-exclusivement qu'au sein des laboratoires de référence et des laboratoires nationaux de métrologie [11].

2.1. Méthodes colorimétriques :

2.1.1 Méthode de Jaffé :

Jaffé décrit la réaction (qui portera son nom) entre le picrate et la créatinine qui, en milieu alcalin, donne une solution de couleur rouge-orange [12] dont la vitesse de formation de la coloration étant proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon [11] et l'intensité de cette coloration est mesurée à une longueur d'onde de 510 nm [54].

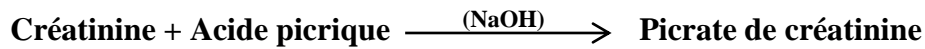
En 1905 *Folin* était le premier à véritablement quantifier, par colorimétrie, la créatinine dans les urines.

La détection puis la quantification de la créatinine dans le sang, initialement débattues, seront décrites plus tardivement. En 1928 *Hunter* donne une liste de 38 composés théoriquement susceptibles d'interférer avec la réaction de Jaffé appelés pseudochromogènes (acétoacétate, pyruvate, acides cétoniques, protéines) qui peuvent représenter 15 à 20 % de la réaction globale pour une créatinine située dans les concentrations normales [12]. Une étape de déprotéinisation par l'acide trichloracétique, l'acide sulfurique ou le tungstate de sodium est indispensable pour éliminer l'interférence des pseudochromogènes .

CHAPITRE II : LES METHODES DE DOSAGE DE LA CREATININE

Les principaux avantages de cette méthode sont la simplicité de mise en œuvre et le faible coût des réactifs [11].

•Point final ou cinétique



2.1.2 Méthode de Jaffé en cinétique (modifiée) :

Pour minimiser l'impact des « pseudo-chromogènes » il faut d'abord mesurer l'augmentation de la coloration sur un mode cinétique [26] dont le principe reste presque le même :

-Réaction colorimétrique (réaction de Jaffé, sans étape de pré-traitement du spécimen) de la créatinine avec l'acide picrique en milieu alcalin dont la cinétique de développement est mesurée à 490 nm (490-510) [55].

La variation d'absorbance de ce complexe est mesurée à des temps déterminés[56].

Cette méthode a été optimisée (spécificité, rapidité et adaptabilité) par le développement d'une méthode cinétique 2 points [55].

2.1.3 Méthode de Jaffé compensée :

Roche Diagnostics a introduit en 2002 les « méthodes compensées »[26] Pour corriger le biais induit par les réactions non spécifiques avec les « chromogènes non- créatinine »[11].

Récemment, plusieurs sociétés ont utilisé le concept de « Jaffé compensé »

L'idée est de recalibrer le dosage en soustrayant systématiquement 27 $\mu\text{mol/L}$ à tous leurs résultats, concentration censée refléter la concentration moyenne de pseudochromogènes dans le sang. Cette compensation est purement mathématique et ne reflète pas la concentration « vraie » de pseudochromogènes qui peut varier d'un individu à l'autre (de 0 à 44 $\mu\text{mol/L}$) et n'est absolument pas prédictible [12].

Par exemple, la concentration des principales chromogènes non-créatinines est plus basse chez les nourrissons et les personnes âgées que chez les patients ayant servis de base au calcul du facteur correctif. Il en résulte l'obtention de résultats faussement négatifs dans certains cas, du fait de la correction excessive [11].

2.2 Méthodes enzymatiques :

Plusieurs fabricants ont développé des méthodes enzymatiques pour surmonter le manque de spécificité des méthodes colorimétriques de type Jaffé.

On distingue deux classes de techniques enzymatiques : celles qui reposent sur une détection spectrorélectométrique et celles mettant en œuvre une détection spectrophotométrique (dans l'UV ou dans le visible).

Le principe de ces techniques est identique dans les deux cas et met en œuvre une cascade de réactions enzymatiques dont le produit final contient un chromogène [11] .

Les deux grandes « familles » de réactions sont possibles.

CHAPITRE II : LES METHODES DE DOSAGE DE LA CREATININE

Dans la méthode enzymatique la plus utilisée de nos jours, la créatinine est d'abord dégradée en créatine par la créatininase (ou créatinine amidohydrolase). La créatine est ensuite convertie par la créatinase en sarcosine qui est, elle-même convertie en formaldéhyde, glycine et eau oxygénée par une sarcosine peroxydase. La production d'eau oxygénée est quantifiée par une dernière réaction enzymatique (qui peut varier selon les fabricants). Le deuxième type de réaction fait intervenir la créatinine iminohydrolase qui transforme la créatinine en N-méthylhydantoïne et en ammoniac, ce dernier donnant une coloration bleue en réagissant avec le bleu de bromo-phénol. Les méthodes enzymatiques s'avèrent, aujourd'hui, significativement plus précises que les méthodes basées sur la réaction de Jaffé [9].

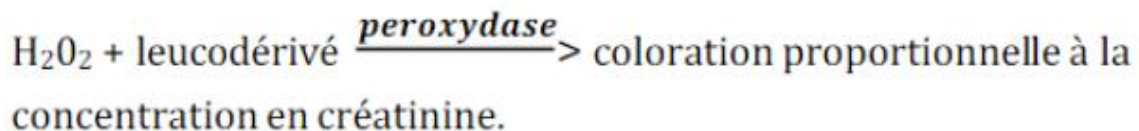
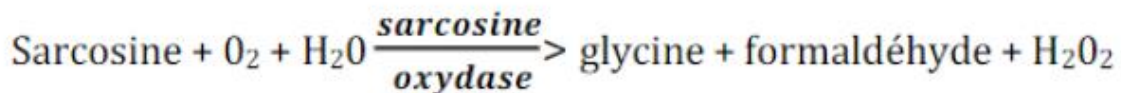
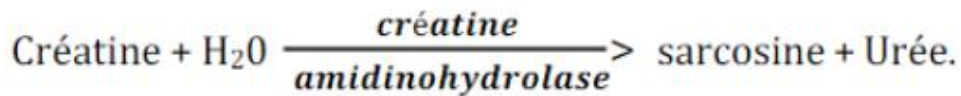


Figure 9 Les réactions de la méthode enzymatique

La sensibilité et la spécificité analytiques des méthodes enzymatiques sont plus importantes que celles des méthodes de Jaffé. La précision analytique (ou coefficient de variation analytique CVA) s'avère systématiquement meilleur dans les méthodes enzymatiques.

La créatininémie étant liée au DFG par une relation hyperbolique, l'impact des différences entre les résultats de créatininémie sera plus important pour des valeurs basses (en pédiatrie), normales, ou proches de la normale, alors qu'à des valeurs importantes de créatininémie (et donc des DFG réduits), cet impact est négligeable. De ce fait, les méthodes de mesure enzymatiques sont à favoriser chez des populations spécifiques comme les patients pédiatriques ou chez les patients en hyperfiltration ainsi que dans les situations où les méthodes de Jaffé subiront des interférences comme l'ictère ou l'acidocétose [47] [57].

Jusqu'à présent, les méthodes enzymatiques avaient un prix de revient nettement supérieur aux autres méthodes ; ce qui a vraisemblablement limité leur utilisation dans les laboratoires d'analyse, les méthodes colorimétriques restant nettement majoritaires.

CHAPITRE II : LES METHODES DE DOSAGE DE LA CREATININE

Les recommandations des sociétés savantes (Société Française de Biologie Clinique et Société de Néphrologie) déjà publiées, ainsi que le rapport de contrôle de marché de l'AFSSAPS en termes de choix méthodologiques devraient influencer en faveur des méthodes enzymatiques[11].

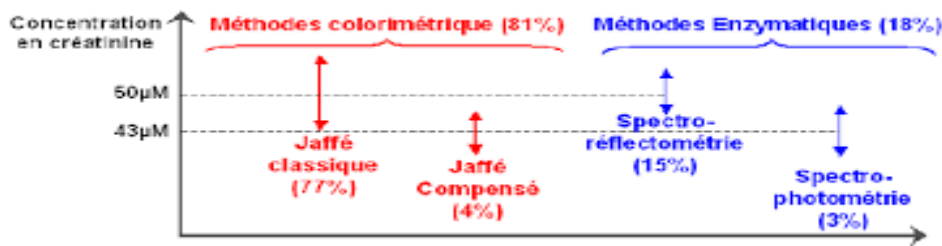


Figure 10 Résultat du contrôle national de qualité (CNQ) de l'ANSM pour les concentrations basses de créatinine

2.3 Méthode de dosage par chimiluminescence (CL) :

La méthode de chimiluminescence est utilisée pour détecter la créatinine dans des échantillons d'urine humaine après une simple dilution avec de l'eau [11].

La créatinine s'est avérée capable de réagir avec l'hydrogène peroxyde pour générer du CL intense en présence d'ions cobalt. Cette méthode a permis une détermination sensible et sélective de créatinine dans la matrice urinaire diluée (sans utiliser d'autre luminophore, enzyme et technique de séparation) dont l'étude d'interférence démontre que certaines espèces courantes dans l'urine, telles que les acides aminés, l'acide ascorbique et la créatine, ont des effets négligeables sur la détection de la créatinine [12]. Chaque mesure prend moins d'une minute, ce qui permet un débit élevé de dépistage. La large plage linéaire et la réponse rapide peuvent avoir une application dans le processus de dialyse. La créatinine étant un élément important et un index clinique pour le diagnostic des maladies et la normalisation de la concentrations de médicaments / métabolites, cette méthode peut trouver des applications en analyse clinique, dans le dépistage toxicologique, la médecine légale, le diagnostic d'abus de drogues ainsi qu'en métabolomique / métabonomie [11].

Cette méthode présente les avantages de sensibilité, sélectivité, simplicité, rapidité et du faible coût.

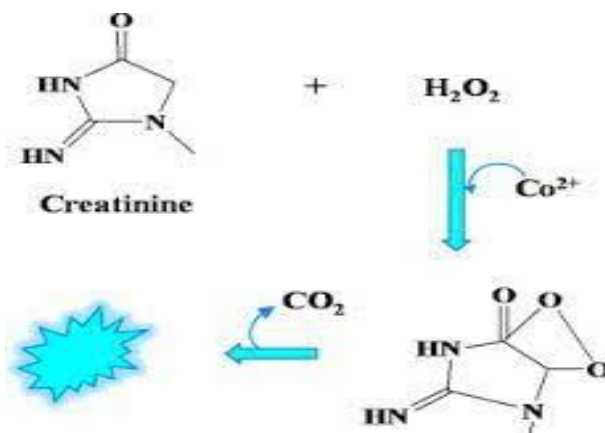


Figure 11: Mécanisme CL du système (créatinine/H₂O₂/Co²⁺)

2.4 Méthode chromatographique :

2.4.1 La dilution isotopique associée à des méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse DIMS:

Les méthodes de référence validées par le JCTLM (*Joint Commitee for Traceability in Laboratory Médecine*) pour le dosage de la créatinine reposent exclusivement sur la dilution isotopique associée à des méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse (IDMS) : la dilution isotopique associée à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-IDMS) et la dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC- IDMS) [11].

La spectrométrie de masse par dilution isotopique est une méthode hautement sensible capable d'une grande précision et exactitude. Étant donné que les manipulations chimiques sont effectuées sur une base de poids direct et que les déterminations par spectrométrie de masse n'impliquent que des mesures de rapport de masse isotopique, cette méthode est directement traçable à l'unité SI pour la quantité de substance, la mole, et est donc considérée comme primaire (ou définitive)[58].

La dilution isotopique consiste à déterminer la concentration d'un composé donné dans un échantillon en ajoutant une quantité connue d'un analogue du composé d'intérêt marqué avec un ou plusieurs isotopes stables (^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O ...). La mesure du rapport entre l'intensité du signal de la molécule et celle de la molécule marquée permet de déterminer directement le rapport de quantité de matière entre les deux molécules et donc de déduire la concentration du composé.

Elle permet de s'affranchir des effets de matrice et a démontré d'excellentes performances en termes de répétabilité et de spécificité, permettant ainsi d'obtenir de très faibles incertitudes[11].

La spectrométrie de masse est une technique de détection extrêmement sensible qui permet de déterminer des structures moléculaires. Le composé organique est ionisé et l'ion obtenu permet la détermination de la masse molaire du composé[5].

Il s'agit d'une méthode de référence très complexe développée pour affecter des valeurs à des matériaux de référence. Elle n'est disponible que dans quelques laboratoires hautement spécialisés répartis à travers le monde[12].

L'utilisation de créatinine marquée au ^{13}C est indispensable à la mise en œuvre de l'approche par Dilution Isotopique (DI).

CHAPITRE II : LES METHODES DE DOSAGE DE LA CREATININE

L'optimisation de la méthode a porté sur :

- l'étape de préparation des échantillons critique pour la mise en œuvre de la DI
- l'étape de purification sur colonne échangeuse d'ions ;
- les conditions de dérivation préalables à la séparation par chromatographie gazeuse
- les conditions chromatographiques [5].

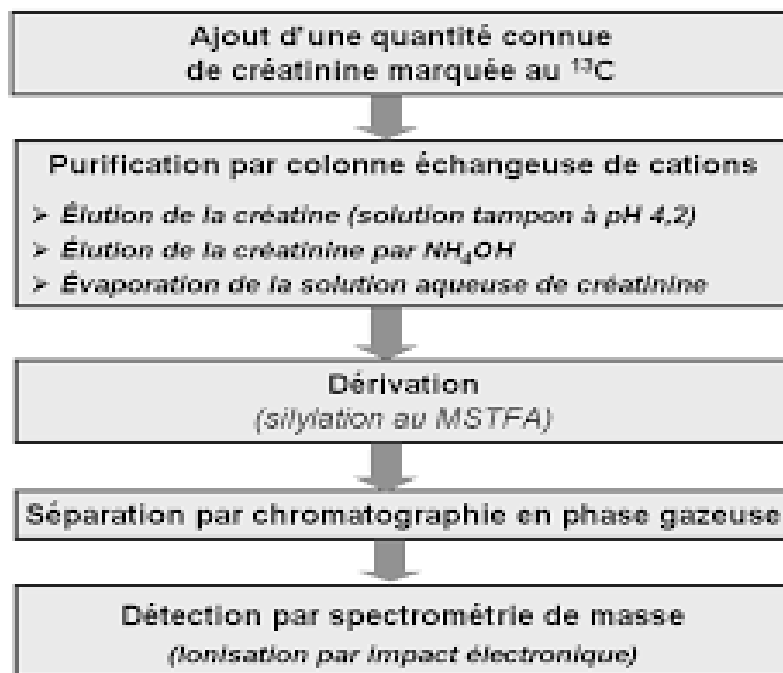


Figure 12 Les différentes étapes de la méthode de détermination de la créatinine par DI-GC/MS

CHAPITRE II : LES METHODES DE DOSAGE DE LA CREATININE

Tableau 6: Les différentes méthodes de dosage de la créatinine [59]

Méthodes de dosage	Modes opératoires	Interférences et limites
Chimiques colorimétriques Fondées sur la réaction de Jaffé (mesure de l'intensité de la coloration rouge- orangé du complexe que forment la créatinine et l'acide picrique en milieu alcalin)	- Mesure en point final avec ou sans déprotéinisation - Mesure de la cinétique réactionnelle le plus souvent en temps fixé (ceci diminue les interférences liées à la présence de substances chromogènes dont le délai d'apparition est différent de celui du complexe (picrate/créatinine)	- Sensibles à l'influence de composés endogènes et exogènes - Substances Jaffé positives : majorent les résultats de créatinine : ce sont certaines lactamines, les corps cétoniques, le glucose, les protéines... - Substances Jaffé négatives : minorent les résultats de créatinine : par exemple la bilirubine
Enzymatiques	- Utilisant la créatinine amidohydrolase : Par transformation en créatine phosphate Par transformation en sarcosine. - Utilisant la créatinine désaminase	- Bilirubine et hémoglobine sont susceptibles de minorer les résultats de créatinine dans les techniques employant une peroxydase - Les composés réducteurs (acide ascorbique) interfèrent dans ces techniques - La présence de créatine et d'ammoniaque endogènes doit être prise en compte
chromatographiques	- Chromatographie liquide haute pression en phase inverse. - Chromatographie sur résine échangeuse de cations ou par formation de paires d'ions.	Inabordable en pratique courante
Sélectionnées	- Déprotéinisation tungstique et purification sur terre de <i>Füller</i> puis réaction de Jaffé en point final (AACC 1981) - Jaffé cinétique (SFBC 1993)	- Qualité de la terre de <i>Füller</i> . - Choix critique des paramètres de la réaction à respecter.
Références	Purification par chromatographie en phase gazeuse ou en phase liquide couplée à une spectrométrie de masse après dilution isotopique d'après.	

CHAPITRE III

LES PRINCIPES DE

COMPARAISON DES

METHODES DE

DOSAGE

1 Généralité :

La comparaison de deux méthodes analytiques a pour but d'évaluer leur concordance, et ceci, à chaque fois que l'on souhaite remplacer une méthode usuelle par une nouvelle méthode de façon définitive (pour des caractéristiques opérationnelles meilleures), temporaire (méthode palliative en cas de panne d'un analyseur), cyclique (dosage à des heures différentes) ou continue (dosage simultané du même paramètre pour accroître le débit analytique) [60].

2 Vérification/validation des performances d'une méthode d'analyse :

- **Histoire :**

C'est en 1962, à la suite de malformations de nouveau-nés en Europe, liées à la prise de thalidomide par des mères porteuses, que l'amendement Kefauver-Harris est signé aux États-Unis. Cet amendement exige alors que les fabricants de médicament démontrent auprès de la *Food and Drug Administration* (FDA) l'efficacité et les risques encourus par la prise de médicaments.

Ainsi, le terme de 'validation' apparaît et depuis, ne cesse d'évoluer et de se diversifier arrivant à l'exiger sur tout ce qui se nomme « méthode » [61].

- **Validation Versus vérification :**

On distingue deux cas :

- le cas où les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIV) utilisés dans les LBM portent le marquage CE et donc garantissent que les performances annoncées par le fournisseur résultent d'essais préalables. Dans ce cas, l'évaluation se limitera à vérifier la satisfaction des performances dans les conditions réelles d'utilisation.
- les cas où il n'existe pas de DMDIV ou il s'agit d'une méthode développée par le laboratoire, cela nécessitera une validation des performances plus approfondie [62].

2.1 Les paramètres d'évaluation des performances analytiques :

2.1.1 La fidélité (precision) :

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord entre les indications d'une valeur mesurée obtenues par des mesures répétées du même échantillon dans des conditions spécifiées [63].

La fidélité fournit une indication sur les erreurs aléatoires et permet de vérifier si la méthode, sous certaines conditions d'essais, est capable de retrouver la donnée introduite [64].

Les échantillons testés sont ceux des échantillons biologiques « anonymisés » provenant de patients (à condition d'avoir l'assurance de leur stabilité pendant la durée de l'évaluation) ou des échantillons du contrôle interne de Qualité (CIQ) [62].

Pour un même analyseur, ce calcul doit être effectué pour chaque analyte à mesurer et à plusieurs niveaux de concentration, choisis en fonction des zones de décision médicale [65][62].

L'étude de la fidélité peut inclure celle de :

- la répétabilité ;
- la fidélité intermédiaire (reproductibilité intra-laboratoire).

2.1.1.1 Répétabilité (repeatability, within-run precision):

La répétabilité est l'étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande effectués dans la totalité des mêmes conditions, elle permet donc de déterminer la variabilité intra-série en minimisant les sources de variation autant que possible: même procédure de mesure, même opérateur, même système de mesure, mêmes conditions de fonctionnement, même milieu, même objet de mesure pendant une courte période de temps [66][67][68] [62].

Cette évaluation a pour objet de vérifier, dans les conditions réelles d'utilisation, le bon fonctionnement du système analytique[62].

Elle est estimée par les paramètres d'évaluation de la dispersion : écart type (s) et coefficient de variation (CV) [66].

2.1.1.2 Reproductibilité /fidélité intermédiaire (intermediate precision) :

Elle se définit comme l'étroitesse de l'accord entre le résultat des mesurages du même mesurande, les mesurages étant effectués en faisant varier les conditions de mesure [66].

Les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode en utilisant des échantillons identiques dans le même laboratoire mais contrairement au cas précédent, les sources de variations sont maximisées afin d'obtenir des mesures dans les conditions où le plus grand nombre de sources de variations sont intervenues pendant un intervalle de temps donné [68][62].

Cette évaluation permet de connaître la variabilité analytique d'une méthode [62].

Les modalités de calcul sont identiques à celles de la répétabilité, avec calcul de l'écart-type (s) et du coefficient de variation (CV) sur les valeurs expérimentales de chaque série.

le CV calculé est comparé au CV limite admissible de fidélité intermédiaire choisi au préalable (Fournisseur, SFBC, RICOS...) dont les valeurs peuvent évoluer dans le temps et en fonction des pathologies [65].

Des résultats d'évaluations proches de ces 2 niveaux de fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire) constituent une manifestation de la robustesse de la méthode [65].

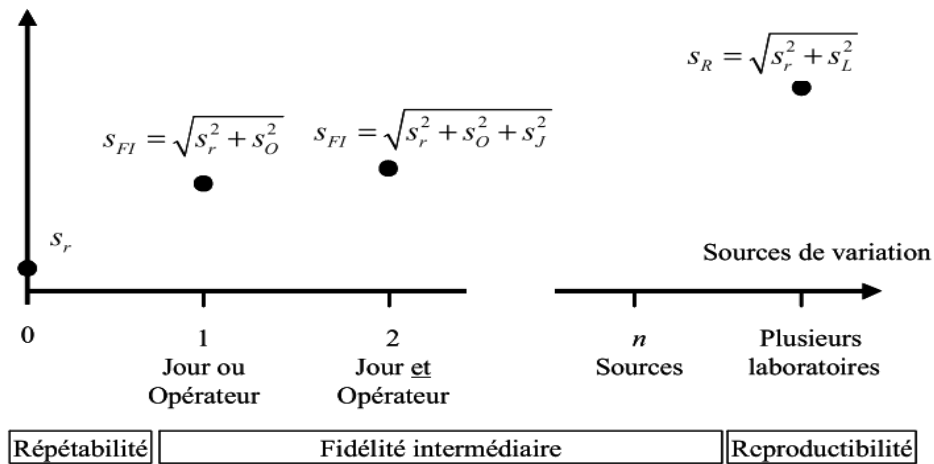


Figure13 : Les différentes estimations de la fidélité d'une méthode en fonction des sources de variation impliquées

2.1.2 Justesse :

La justesse exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essai et une valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie (moyenne des valeurs obtenues par plusieurs laboratoires), soit comme une valeur de référence acceptée (valeur obtenue par titrage avec une méthode de référence) [67] [62].

Cette évaluation permet de mettre en évidence le biais (l'erreur systématique) d'une méthode ou une différence systématique entre deux méthodes et de la quantifier [62]

Il existe plusieurs modes d'expression de la justesse car le paramètre de validation qui la caractérise est le biais, qui peut être exprimé de façon absolue ou relative[67].

2.1.3 Limite de détection :

La limite de détection (LOD) est la plus petite quantité à examiner dans un échantillon, pouvant être détectée mais non quantifiée comme une valeur exacte [62].

Cette évaluation permet de connaître la valeur à partir de laquelle on peut affirmer avec un risque donné que la substance est présente dans l'échantillon, et de ne pas communiquer une valeur qui n'est pas significative sur le plan analytique [62][67].

Cette détermination ne présente un intérêt que dans le cas des marqueurs qui sont normalement non quantifiables (troponine, hCG, PSA, après prostatectomie, etc.)[62].

2.1.4 Limites de linéarité (linearity interval) :

L'étude de la linéarité porte sur la proportionnalité entre les concentrations calculées par la fonction d'étalonnage et les concentrations théoriques.

Elle est en fait une évaluation du biais de justesse [67].

Les limites de linéarité (limite inférieure ou limite de quantification et limite supérieure) définissent l'intervalle de mesure (exprimé en concentration) à l'intérieur duquel les mesures

peuvent être effectuées avec fiabilité et justesse, elles sont une caractéristique de la méthode et des conditions dans lesquelles elle est mise en œuvre [62].

Au-delà de la limite supérieure, une dilution de l'échantillon dans un solvant approprié doit être pratiquée [62].

La linéarité de la méthode ne doit pas être confondue avec la linéarité de la fonction de réponse de l'appareillage de mesure qui caractérise la seule réponse instrumentale lors de l'étalonnage et qui n'est pas indispensable pour obtenir une quantification exacte [63].

- Limite de quantification :

La limite de quantification est la plus petite quantité à examiner dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une fidélité et une justesse définies [67][62].

Elle correspond généralement à la limite inférieure de linéarité de la méthode[62].

- Effet dilution (dilution effect) :

L'effet dilution résulte de la modification de la matrice par dilution du milieu biologique dans un diluant de composition différente du milieu biologique et peut être à l'origine de résultats erronés.

Il doit être testé dans le cas où des valeurs physiopathologiques peuvent être supérieures au dernier point de la gamme.

La fidélité et la justesse de la dilution doivent être évaluées, et la matrice de dilution définie [62].

2.1.5 Exactitude (accuracy) :

L'exactitude est définie comme l'étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et la valeur de référence acceptée « valeur conventionnellement vraie ».

Comme la justesse, l'exactitude devrait être vérifiée à partir d'étalons primaires, de matériaux de référence certifiés (MRC) ou de méthodes de référence traçables au SI ou à des étalons internationaux [62] [65].

A ce jour, les laboratoires évaluent l'exactitude à partir des résultats des Evaluations Externes de la Qualité (EEQ) et ceci dans le cas où l'évaluation de la justesse n'est pas possible

L'évaluation de l'exactitude est pertinente lorsque le nombre de participants à l'EEQ est suffisant [62][65].

Une étude d'exactitude correspond à la comparaison du résultat d'un seul dosage d'un échantillon inconnu à une valeur cible consensuelle.

L'écart observé correspond à l'inexactitude (erreur d'exactitude)[65].

Pour les méthodes analytiques quantitatives, l'exactitude représente toujours la combinaison de la justesse et de la fidélité (résultante de la somme des erreurs systématique et aléatoire, en d'autres termes l'erreur totale liée au résultat) [62][67].

2.1.6 Contamination inter-échantillons (carry-over) :

C'est un phénomène qui résulte du transfert d'une partie d'un échantillon dans un autre tel qu'il produit une modification dont l'effet peut être évalué et quantifié.

L'étude de la contamination d'un échantillon de concentration élevée de l'analyte à un autre échantillon de niveau faible « effet mémoire » est importante car la contamination des échantillons altère l'exactitude des mesures, et ceci, si le mode opératoire, ou ses modifications sont susceptibles d'avoir un effet sur la contamination inter-échantillons [62] [65].

Le niveau de la contamination doit être proche de zéro ou susciter la définition de règles de vérification systématique [65].

2.1.7 Évaluation de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine et de la turbidité des échantillons :

Des substances dites « interférentes » altèrent le signal de mesure pouvant entraîner des résultats erronés [65].

L'influence de ces substances varie avec la nature de l'examen et la méthode de mesure ou de recherche mise en œuvre.

Le protocole d'évaluation propose d'apercevoir de façon quantitative l'influence de certains composés d'origine endogène (hémoglobine, bilirubine, colorant, etc.) ou exogène (médicaments, aliments, toxiques, etc.) en surchargeant avec ceux-ci un échantillon de concentration connue de l'analyte [62] [65].

2.1.8 Étude de la stabilité des échantillons des réactifs et des étalons (stabilities) :

La stabilité d'un produit est caractérisée par le maintien des mêmes propriétés dans le temps pour des conditions strictement définies.

Plusieurs types d'étude de stabilité peuvent être conduits :

- Stabilité des réactifs et des étalons.
- Stabilité de l'analyte au cours des différentes étapes du prétraitement.
- Stabilité de l'analyte dans l'échantillon biologique à différentes étapes du processus (acheminement, conservation à différentes températures, etc.) [62].

L'objectif étant d'établir les critères de stabilité du ou des analytes à chaque étape du mode opératoire et maintenir ainsi la performance du processus analytique [62][64].

2.1.9 Spécificité analytique (specificity)/sélectivité (selectivity) :

« La spécificité analytique » permet de garantir que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser[62].

Elle est liée à la justesse de la méthode, dans le sens où les éventuelles interférences provenant d'une non-spécificité de la méthode analytique vont entraîner un défaut de justesse, et donc un biais de mesure [64].

«La sélectivité» d'une méthode analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composés potentiellement présents [62].

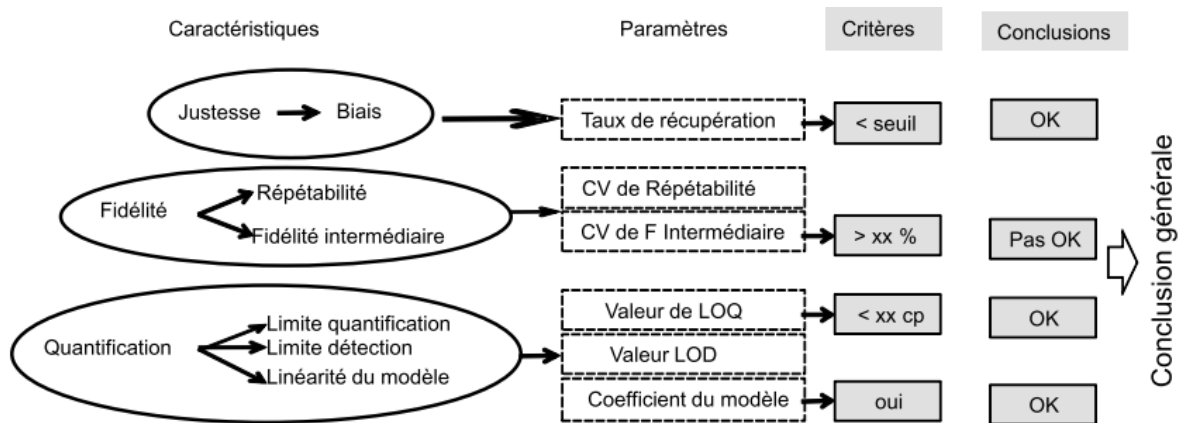


Figure14 : Illustration de la méthodologie de caractérisation des caractéristiques de performance étudiées séparément.

3 Evaluation de concordance des méthodes :

On distingue trois degrés de concordance :

-L'équivalence : les deux méthodes sont échangeables sans perte d'exactitude, puisque leurs résultats sont identiques à l'imprécision analytique près.

-La commutabilité : les méthodes ne sont pas rigoureusement équivalentes mais peuvent être échangées sans altération de la capacité diagnostique, c'est le critère de comparaison, le plus économique où l'erreur consécutive au changement n'est pas nulle mais reste tolérable.

-L'incompatibilité : les résultats des méthodes diffèrent plus que la tolérance médicale autorisée pour le paramètre [60].

Le protocole expérimental consiste à rassembler des échantillons à niveaux de concentrations réparties de façon homogène dans toute l'étendue du domaine d'analyse [62].

Ces échantillons sont ensuite fractionnés en deux parties afin de soumettre simultanément chaque échantillon aux deux méthodes analytiques [60].

Une cohorte de 40 échantillons au minimum est constituée et les conditions de stabilité des échantillons sont définies [62].

3.1 Corrélation de Pearson :

Le coefficient de corrélation mesure l'intensité de la liaison entre deux variables indépendantes x et y (ce qui n'est pas le cas lors d'une comparaison de technique) pour démontrer un lien entre eux et non leur concordance.

Deux méthodes analytiques peuvent être fortement corrélées tout en présentant un biais considérable qui les rend totalement incompatibles [60][69].

La valeur du coefficient de corrélation n'a donc pas d'intérêt pour la comparabilité des deux méthodes [69].

3.2 La régression de Passing et Bablok :

Les données pertinentes sont apportées par l'équation de la droite de régression dont la pente et l'ordonnée à l'origine exprimeront la similitude des méthodes comparées (similitude optimale avec pente égale à 1 et ordonnée à l'origine égale à 0)[69].

La méthode de Passing et Bablok permet de calculer les coefficients a et b (d'où A et B par la relation $B=1/b$ et $A=-a/b$) ainsi qu'un intervalle de confiance autour de ces valeurs.

L'étude de ces valeurs permet de comparer les méthodes. Si elles sont très proches, on aura naturellement b proche de 1 et a proche de 0 [70].

• Présentation graphique : le diagramme de dispersion :

Les résultats de la nouvelle méthode sont reportés en ordonnée et ceux de l'ancienne méthode en abscisse. On évalue la discordance entre les méthodes par l'écart entre la droite de régression et la bissectrice des axes (la ligne d'identité) [60].

3.3 Analyse graphique de Bland-Altman :

La méthode graphique de Bland et Altman repose sur la définition même de la concordance entre deux séries de mesures.

Les deux séries sont concordantes si l'une ne surestime ou ne sous-estime pas l'autre de façon trop importante, et si les écarts entre les deux séries pour chaque individu mesuré (deux fois) ne sont pas trop importants [71].

• Présentation graphique : diagramme des différences :

Pour calculer ce qu'on appelle les limites d'agrément (limits of agreement), il y a trois étapes :

1. Calculer d = moyenne des Différences
2. Calculer sdd = l'écart-type des Différences
3. Calculer la limite inférieure et supérieure = $d \pm 2 sdd$ [72]

L'axe des abscisses est la moyenne des mesures des deux séries, et l'axe des ordonnées est la différence entre les mesures des deux séries (la série n°2 – la série n°1) [71].

Le diagramme de dispersion et le diagramme des différences sont complémentaires. Le premier évalue la concordance globale moyenne de l'ensemble des points, le second s'intéresse individuellement à chaque couple [60].

Le CLSI (ancien NCCLS) a publié une directive pour comparer les méthodes dans laquelle les deux diagrammes sont simultanément conseillés [60].

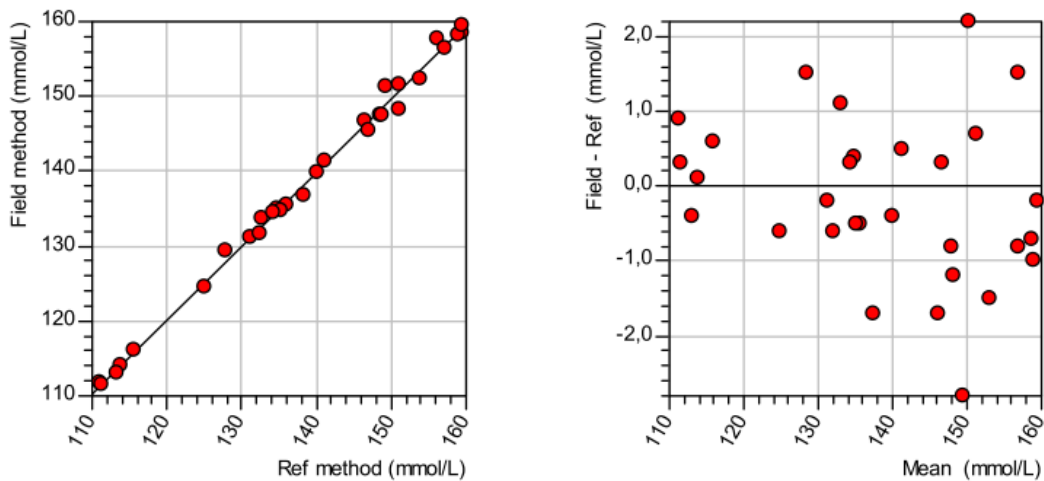


Figure 13: Comparaison des méthodes : diagramme de dispersion à gauche et diagramme des différences à droite.

4 Performance clinique :

Les résultats discordants proches des limites de décision sont particulièrement significatifs lorsqu'ils affectent la classification des patients, affectant potentiellement les résultats (performance clinique).

Pour cette raison, il est souvent utile d'évaluer la concordance diagnostique entre deux dosages par rapport à des limites de décision spécifiques[73].

Les décisions cliniques sont souvent prises par rapport à des limites de décision spécifiques, il est donc important d'évaluer l'impact d'un test sur la classification des maladies

Le taux d'erreurs de classification est une mesure de performance importante; cependant, des classifications erronées ne sont importantes que s'ils affectent l'état de santé des patients.

Dans le cadre d'une étude diagnostique, le risque est déterminé par la probabilité de mauvaise classification et le résultat associé à une mauvaise classification (produit de ces deux facteurs) [74].

- **Autres caractéristiques non techniques**

Il est aussi possible d'évaluer les méthodes comparées selon d'autres caractéristiques non techniques (délai, rapidité, efficacité, coût)[67].

PARTIE PRATIQUE

1 Objectifs de l'étude :

Objectif principal :

- Comparer les valeurs de la créatinine sanguine dosée par les deux méthodes : la méthode de Jaffée modifiée et la méthode enzymatique.

Objectifs secondaires :

- Evaluer les performances analytiques (fidélité, justesse, exactitude...) du **COBAS INTEGRA® 400 plus** pour les deux méthodes de dosage.

- Comparer les résultats du DFG calculé à partir de la créatininémie dosée par les deux méthodes précédentes.

- Faire ressortir l'utilité de la méthode enzymatique dans certaines situations.

PARTIE PRATIQUE : MATERIELS ET METHODES

2 Matériels et méthodes :

2.1 Cadre de l'étude :

Notre travail est une étude comparative réalisée prospectivement au sein du laboratoire central du CHU Frantz Fanon de Blida, unité de biochimie, durant la période qui s'étale du Mars jusqu'à Juillet 2021.

2.2 Echantillons biologiques :

2.2.1 Critères d'inclusion :

- Tout patient ayant un sérum sur tube hépariné dont on a pu l'interroger, et ceci pour toute les catégories d'âges et de sexe.

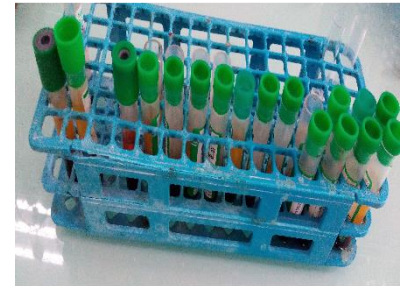
2.2.2 Critère d'exclusion :

- Tout manque des données obligatoires aux calculs effectués dans notre étude (âge, taille..) ainsi que tout sérum présentant un aspect pouvant fausser les résultats de dosage (ictérique, turbidité, hémolysés)
- Femmes enceintes vu la non possibilité du calcul du DFG à partir de la créatininémie.

2.2.3 Prélèvement sanguin :

Le sang du patient était recueilli par ponction veineuse sur tube hépariné et acheminé au laboratoire où il a été centrifugé à 4000 tours par minute pendant 3 min.

Les tubes sanguins qui ont été transportés ou dosés aux jours différents de celui du prélèvement ont été séparés sur tube Eppendorf et conservés à une température de 4°C jusqu'au jour de leur dosage.



- **Conservation des échantillons :**

15-25 °C	7 jours
2-8 °C	7 jours
(-15)-(-25) °C	2 mois

PARTIE PRATIQUE : MATERIELS ET METHODES

2.3 Recueil des données :

Les antécédents pathologiques, ainsi que des paramètres anthropométriques : le poids, la taille, l'âge ... ont été récolté par interrogation des patients sur une fiche de renseignement dont un exemplaire est présenté ci-dessous :

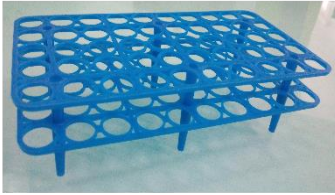
Figure 14: Exemple de fiche de renseignement utilisée pour le recueil des données

CHU FRANTZ FANON UNITÉ HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BIOCHIMIE		
Service:	N° d'identification:	Date:
Nom & prénom:	Année de naissance:	
Age: <input type="text"/>	Sexe: H <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	
Taille: <input type="text"/> m	Poids: <input type="text"/> Kg	
Antécédents personnels:		
Facteurs de risques:		
Antécédents familiaux:		
Sous traitement:	Dernière prise :	
Autres remarques:		Taux de créatinine: (mg/L)
		M.jaffée <input type="text"/> M.enz. <input type="text"/>

PARTIE PRATIQUE : MATERIELS ET METHODES

2.4 Moyens et matériels :

2.4.1 Verrerie et petit matériel :



Portoirs



Tubes héparinés



Tubes secs



Tubes Eppendorf



Micropipettes 1000 μ l et 500 μ l



Embouts

2.4.2 Appareillage :



Centrifugeuse ROTOFIX 32 A I HETTIC



**Automate analyseur : COBAS INTEGRA®
400 plus**

- Présentation générale de COBAS INTEGRA® 400 plus :



Le système **COBAS INTEGRA® 400 plus** (**C**omprehensive **B**io-**A**nalysical **S**ystem) est un analyseur chimique informatisé et entièrement automatisé. Son utilisation est prévue pour la détermination qualitative et quantitative d'une vaste gamme d'analytes (plus de 140 tests) dans différents liquides corporels, permettant de consolider les activités de chimie clinique, protéines spécifiques, médicaments, drogues sériques et urinaires.

Il utilise le concept réactif cobas c pack qui assure des résultats des patients harmonisés pour les laboratoires multi-sites [75].

- **Avantages**

- Un instrument de paillasse compact pour un espace limité.
- Une cadence jusqu'à 400 tests/heure et Jusqu'à 90 échantillons simultanément dans le système, possibilité d'échanger les racks après le pipetage.
- 6 racks d'échantillons pour différents tubes primaires et secondaires avec un chargement en continu et lecture simultanée.
- Chargement et déchargement flexible des réactifs en cours de routine.
- Stockage réfrigéré pour une longue stabilité des réactifs et de plus longs intervalles de calibration
- Les réactifs liquides prêts à l'emploi pratiques sont les mêmes pour tous les analyseurs COBAS, ce qui se traduit par un minimum de formation et une productivité optimale.
- Maintenance automatisée du système ce qui réduit de manière significative les interventions réalisées par l'opérateur.
- Identification des échantillons positive par code-barres [75] [76].



PARTIE PRATIQUE : MATERIELS ET METHODES

- **Spécifications techniques :**

Type d'échantillons	Sérum, plasma, urine, LCR, hémolysat et sang total
Chargement échantillons	-Capacité de chargement de 90 tubes primaires ou secondaires : 6 racks de 15 positions -Prédilution automatique. -Postdilution ou concentration Lecture code-barres par scanner laser. Gestion immédiate des urgences
Tubes	Tubes primaires de 5,7 et 10 mL Godets et micro-godets
Volume échantillon	2 à 10 μ L par test en général
Consommation d'eau	1-2 litres/h de fonctionnement Alimentation directe eau type I (selon NCCLS) ou eau désionisée
Dimension d'analyseur	Largeur : 135 cm Profondeur : 66 cm Hauteur : 75 cm
Poids	230 Kg
Certification	CE, UL, C-UL

- **Principe du système :**

Intégration de 4 principes de mesure :

Absorbance : Enzymes, substrats

Ce principe est appliqué au dosage de la créatinine.

C'est une méthode d'analyse basée sur le fait que les substances colorées absorbent une partie du spectre lumineux, l'intensité de la lumière traversée est alors réduite et ceci en fonction de la concentration de la substance et l'épaisseur traversée. On déduit ainsi la concentration de la substance à doser [77].

Turbidimétrie : Protéines spécifiques.

Polarisation de fluorescence : dosage de médicaments et toxiques sériques.

Electrodes sélectives (ISE) : Na⁺, K⁺, Cl⁻, Li⁺

Technique KIMS : Dépistage de drogues urinaire.

PARTIE PRATIQUE : MATERIELS ET METHODES

2.4.3 Réactifs :

- **CREJ2 (Creatinine Jaffé Gen.2) :**

Composition et concentrations

- **Composant SR:**
 - Acide picrique : 38 mmol/L, pH = 6.5
 - Pas de tampon réactif.
- **Composant R1 :**
 - Hydroxyde de potassium : 900 mmol/L.
 - Phosphate: 135 mmol/L.
 - pH \geq 13.5



Usage :

Test *in vitro* pour la mesure quantitative de la créatinine dans le sérum et le plasma humain sur les systèmes COBAS Integra, selon la méthode colorimétrique de Jaffé en cinétique.

- **CREP2 (Creatinine plus Gen.2) :**

Composition et concentrations

- **Composant SR:**
 - Tampon TAPS (acide N-tris[hydroxyméthyl]méthyl3aminopropanesulfonique): 50 mmol/L, pH 8.0 ;
 - Créatininase (de microorganismes) : \geq 498 μ kat/L ;
 - Peroxydase (de raifort) : \geq 16.6 μ kat/L ; 4-aminophénazone : 0.5 g/L ;
 - Ferrocyanure de potassium (II) : 60 mg/L ;
 - Détergent ;
 - Conservateur
- **Composants R1**
 - Tampon TAPS (acide N-tris[hydroxyméthyl]méthyl3aminopropanesulfonique) : 30 mmol/L, pH 8.1
 - Créatinase (de microorganismes) : \geq 332 μ kat/L
 - Sarcosine oxydase (de microorganismes) : \geq 132 μ kat/L
 - Ascorbate oxydase (de microorganismes) : \geq 33 μ kat/L
 - Catalase (de microorganismes) : \geq 1.67 μ kat/L ;
 - HTIB : 1.2 g/L
 - Détergents
 - Conservateur

Usage :

Test *in vitro* pour la mesure quantitative de la créatinine dans le sérum et le plasma humain sur les systèmes COBAS INTEGRA, selon la méthode enzymatique colorimétrique.

PARTIE PRATIQUE : MATERIELS ET METHODES

- Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C	Voir la date de péremption sur l'étiquette du cobas c pack.
Sur l'analyseur, en cours d'utilisation entre 10 et 15 °C	8 semaines

- Préparation des réactifs

Prêts à l'emploi.

2.4.4 Réactifs auxiliaires :

a- Contrôle interne de qualité QIC

- **Precicontrol Clin Chem Multi 1 (PCCM 1)**

PreciControl ClinChem Multi 1 est un sérum de contrôle lyophilisé à base de sérum humain. Les concentrations et les activités des constituants du contrôle sont habituellement situées dans le domaine de la normale ou au seuil normal/pathologique.

Il s'utilise pour le contrôle de qualité et permet d'évaluer l'exactitude et la précision des tests quantitatifs indiqués dans les fiches de valeurs.

- **Precicontrol Clin Chem Multi 2 (PCCM 2)**

PreciControl ClinChem Multi 2 est un sérum de contrôle lyophilisé à base de sérum humain. Les concentrations des constituants du contrôle sont situées habituellement dans le domaine pathologique.



PARTIE PRATIQUE : MATERIELS ET METHODES

- **Composition et concentrations**

- **Composants actifs du lyophilisat:**

Sérum humain, additifs chimiques et matériaux d'origine biologique

Concentration de la créatinine :

CREJ2 :

PCCM110.6 mg/L

PCCM238.4 mg/L

CREP2 :

PCCM1 9.68 mg/L

PCCM2 37.0 mg/L

L'intervalle des contrôles correspond à la valeur cible ± 3 s (l'écart type retrouvé lors de plusieurs déterminations de la valeur cible)

- **Composants non-actifs du lyophilisat:**

Stabilisateurs

- **Préparation**

Ouvrir un flacon avec précaution sans perdre de lyophilisat et y introduire exactement 5.0 mL d'eau distillée ou d'eau désionisée.

Refermer le flacon avec soin et en dissoudre le contenu dans un délai de 30 minutes en mélangeant occasionnellement par de légères rotations. Éviter la formation de mousse

Sécurité :

Pas une substance ni un mélange dangereux mais manipuler comme potentiellement infectieux car le risque de contamination ne peut être exclu avec certitude.

- **Fréquence des contrôles :**

La fréquence des contrôles et les limites de confiance devraient être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats devraient se situer dans les limites de confiance définies

- **Conservation et stabilité**

Conservation : entre 2 et 8 °C

Conserver les flacons de contrôles bien fermés et protégés de la lumière après usage.

Stabilité des constituants:

Sérum de contrôle lyophilisé 2 - 8 °C	Jusqu'à la date de péremption indiquée
Après reconstitution 15 - 25 °C	12 heures
2 - 8 °C	5 jours
(-15) - (-25) °C	28 jours (une congélation possible)

b- Calibration :

C'est un procédé permettant d'établir une relation entre l'absorbance et la concentration du calibrateur correspondant [77].

- **Domaine d'utilisation :**

Calibrator for automated systems (C.f.a.s.)

est un calibrateur lyophilisé à base de sérum humain, il s'utilise pour calibrer les tests quantitatifs de Roche sur les analyseurs de chimie clinique de Roche indiqués dans les fiches de valeurs dont COBAS integra® 400 plus

- **Composition et concentrations :**

Composants actifs du lyophilisat:

Sérum humain, additifs chimiques et matériaux d'origine biologique.

Composants non-actifs:

Stabilisateurs

Concentration de la créatinine :

CREJ2 40.2 mg/L

CREP2 37.1 mg/L



PARTIE PRATIQUE : MATERIELS ET METHODES

- Préparation :

Ouvrir un flacon avec précaution sans perdre de lyophilisat et y introduire exactement 3.0 mL d'eau distillée ou d'eau désionisée. Refermer le flacon avec soin et en dissoudre le contenu dans un délai de 30 minutes en mélangeant occasionnellement par de légères rotations. Éviter la formation de mousse.

- Fréquence des calibrations :

À chaque lot et si les résultats de contrôle de qualité l'exigent

- Conservation et stabilité

Calibrateur non reconstitué	2 - 8 °C	jusqu'à la date de péremption indiquée
	15 - 25 °C	8 heures
Calibrateur reconstitué	2 - 8 °C	2 jours
	(-15) – (-25) °C	4 semaines (une congélation possible)

*Exceptions

Conserver les flacons de calibrateur bien fermés et protégés de la lumière après usage.

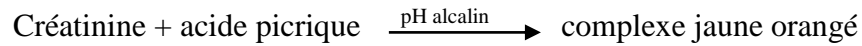
PARTIE PRATIQUE : MATERIELS ET METHODES

2.5 Méthodes :

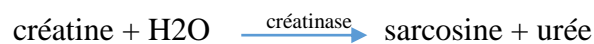
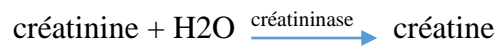
2.5.1 Méthodes de dosage :

On a utilisée deux méthodes pour le dosage de la créatinine :

-Méthode de Jaffé modifiée qui a comme réaction :



-La méthode enzymatique dont la réaction se déroule comme suit :



HTIB : acide 2, 4,6-triiodo-3-hydroxybenzoïque

Les principes de ces deux méthodes ont été traités dans le chapitre II : les méthodes de dosage de la créatinine.

2.5.2 Analyses statistiques :

- Pour l'analyse des données nous avons utilisé :
 - Le logiciel EXCEL.
 - Le logiciel IBM SPSS Statistics version 25.
 - Le logiciel MedCalc Version 20.008

 - Les valeurs quantitatives ont été comparées par le test t de student
 - Les valeurs qualitatives ont été comparées par le test X^2 de Pearson
 - La valeur $P < 0.05$ a été considérée comme significative.
- ✓ La concordance des résultats des deux techniques, a été appréciée par la droite de régression (Passing & Bablok) et la droite de dispersion (Bland Altman)

RESULTATS

3 Résultats :

3.1 Description de la population étudiée :

On a pu sélectionner et interroger au hasard 216 patients, La taille quotidienne des échantillons était d'environ 4% des échantillons provenant des différents services :

- 54 Patients hospitalisés dans différents services du CHU Frantz Fanon de Blida dont :
 - 19 du service de cardiologie et médecine interne.
 - 06 du service de neurochirurgie.
 - 20 du service de neurologie.
- 148 Patients externes qui viennent pour des analyses de routine
- 03 Patients hospitalisés aux différents services de l'EHS de transfusion des organes et tissus (TOT) de Blida
 - 2 : Service de néphrologie.
 - 1 : Service d'hémodialyse.
- 11 Patients de population pédiatrique de l'UHU Hassiba Benbouali de Blida

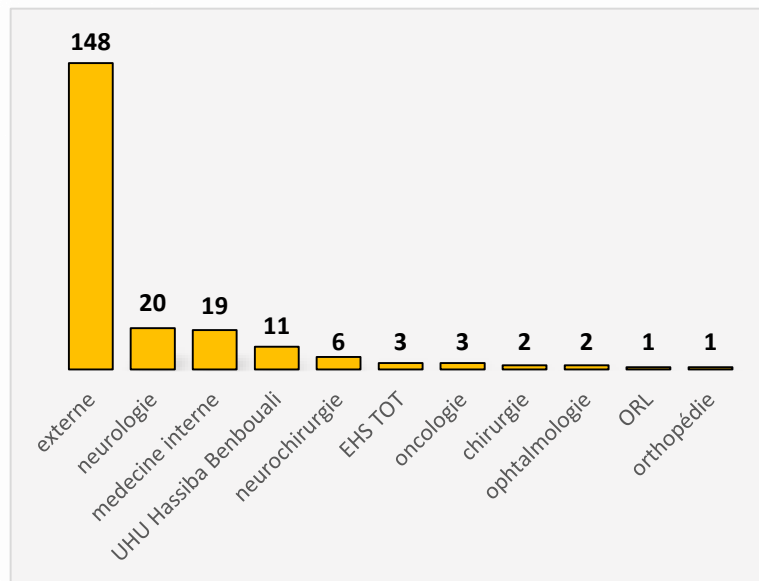


Figure 15: Répartition de la population selon les services

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.2 Répartition de la population :

3.2.1 Selon le sexe :

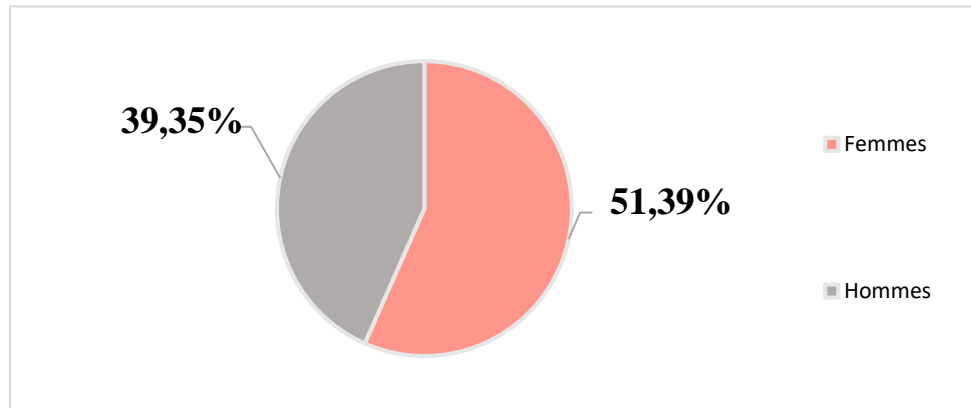


Figure 16: Répartition de la population adulte selon le sexe

3.2.2 Selon l'âge :

Tableau 7: Répartition de la population selon l'âge

	Total	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart type	Classe modale
Enfants	20	3	17	8,44	4,3	[0-10]
Femmes	111	19	87	45,2	17,57	[31-40]
Hommes	85	20	85	54,33	17,48	[61-70]
Toute population confondue	216	3	87	45,7	20,89	[31-40]

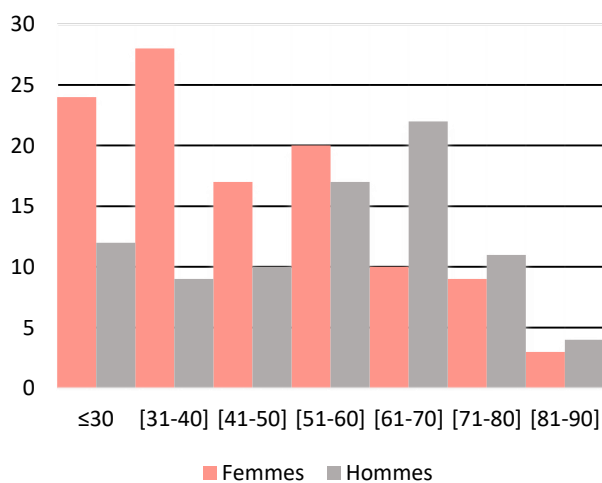


Figure 17: Répartition des adultes selon les tranches d'âge

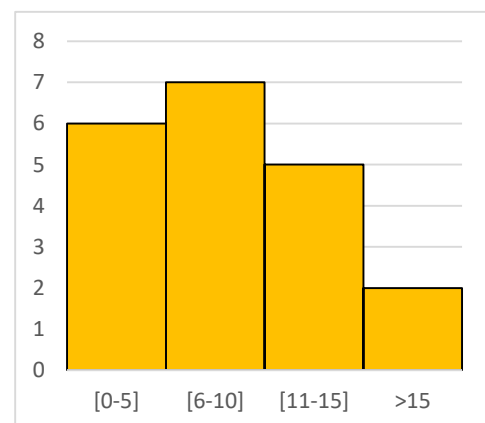


Figure 18: Répartition des enfants selon les tranches d'âge

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.2.3 Selon le poids :

Tableau 8: Classification de la population selon l'indice de masse corporelle (IMC) :

	Moyenne	Médiane	Ecart type	Minimum	Maximum
Enfants	20,633	17,98	6,9471	14,4	40
Femmes	27,787	27,217	6,1547	16,4	47,2
Hommes	25,423	24,676	3,9148	17,3	34,5
Toute population confondue	26,194	25,712	5,8357	14,4	47,2

L'interprétation des valeurs de l'IMC a été réalisée selon les normes de l'OMS pour les adultes et pour les enfants [78][79].

Classification	n (%)
Maigre	6 (2,8 %)
Normal	93 (43.1 %)
Surpoids	63 (29,2 %)
Obésité type I (modérée)	38 (17,6 %)
Obésité type II (sévère)	8 (3,7 %)
Obésité type III (massive, morbide)	8 (3,7 %)

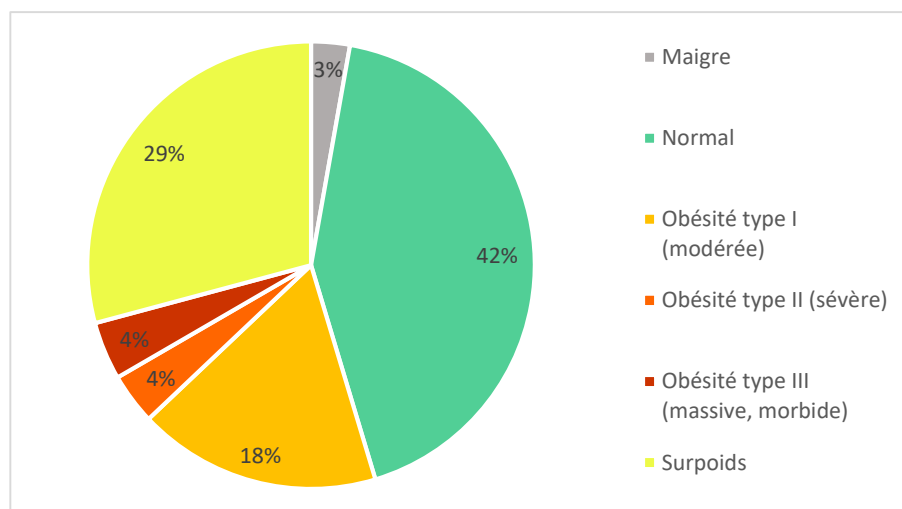


Figure 19: Classification de la population selon le poids

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.2.4 Selon les maladies atteintes :

Tableau 9: Répartition de la population selon les maladies atteintes

Maladies	n (%)
Maladies pulmonaires	1 (0,46%)
Diabète type 1	2 (0,93%)
Asthme	2 (0,93%)
Maladies génétiques	2 (0,93%)
Problèmes hépatiques	2 (0,93%)
AVC	3 (1,39%)
Maladies gynécologiques	3 (1,39%)
Maladies auto-immunes	4 (1,85%)
Anémies	5 (2,31%)
Maladies de la prostate	5 (2,31%)
Maladies ophtalmiques	6 (2,78%)
Maladies d'estomac et de côlon	6 (2,78%)
Maladies rénales	8 (3,70%)
Maladies inflammatoires	8 (3,70%)
Maladies rhumatologiques	8 (3,70%)
Hypercholestérolémies/triglycéridémie	9 (4,17%)
Cancer	11 (5,09%)
Maladies neuronales	12 (5,56%)
Maladies thyroïdiennes	12 (5,56%)
Cardiopathies	34 (15,74%)
Diabète type 2	47 (21,76%)
Hypertension	48 (22,22%)
Aucune	81 (37,50%)

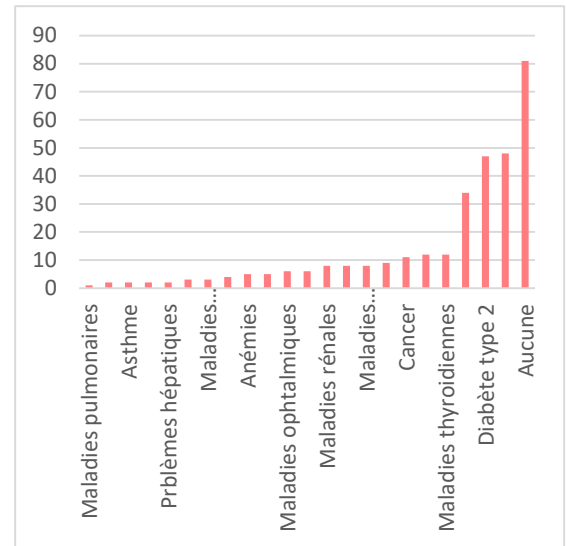


Figure 20: Répartition de la population selon les différentes maladies

3.2.5 Selon les valeurs de la créatinine sanguine :

Proposition de répartition des concentrations pour les spécimens utilisées pour les comparaisons de technique		GRP A	GRP B	GRP C	GRP D
Intervalle (mg/L)		<7,9185	8,03-13,58	13,69-22,62	22,74-113,12
Recommandations		10%	30%	30%	30%
Population étudiée	m.Jaffé	65,74%	29,17%	3,70%	1,39%
	m.enzymatique	68,06%	28,24%	2,31%	1,39%

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.2.6 Selon l'interprétation des valeurs de la créatinine sanguine mesurée :

3.2.6.1 Chez toute la population :

	V.Normales n (%)	V.pathologiques n (%)	P
Méthode de Jaffé modifiée	191 (88,43%)	25 (11,57%)	0,255424
Méthode enzymatique	199 (92,13%)	17 (7,87%)	

3.2.6.2 Chez les hommes :

	V.Normales n (%)	V.pathologiques n (%)	P
Méthode de Jaffé modifiée	77 (90,59%)	8 (9,41%)	0,255424
Méthode enzymatique	77 (90,59%)	8 (9,41%)	

3.2.6.3 Chez les femmes :

	V.Normales n (%)	V.pathologiques n (%)	P
Méthode de Jaffé modifiée	95 (85,59%)	16 (14,41%)	0,202031
Méthode enzymatique	102 (91,89%)	9 (8,11%)	

3.2.6.4 Chez les enfants :

	V.Normales n (%)	V.pathologiques n (%)	P
Méthode de Jaffé modifiée	19 (95%)	1 (5%)	0,500000
Méthode enzymatique	20 (100%)	0 (0%)	

Les valeurs sont classifiées selon les valeurs de référence annoncées par le fournisseur pour chaque méthode de dosage (voir annexe 3).

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.2.7. Selon la clairance et le DFG :

3.2.7.1 Cas de la formule de CG :

Gradation des niveaux de risqué en fonction de ClCr			Méthode de Jaffé modifiée		Méthode enzymatique		P
			n	(%)	n	(%)	
CG (ml/mn/1.73m2)	G1	>90	134	(68,4%)	137	(69,9%)	0.000
	G2	60-89	42	(21,4%)	37	(18,9%)	
	G3a	45-59	12	(6,1%)	15	(7,7%)	
	G 3b	29-44	4	(2%)	4	(2%)	
	G4	15-29	3	(1,5%)	1	(0,5%)	
	G5	<15	1	(0,5%)	2	(1%)	

3.2.7.2 Cas du DFG calculé par la formule MDRD :

Gradation des niveaux de risqué en fonction du DFG			Méthode de Jaffé modifiée		Méthode enzymatique		P
			n	(%)	n	(%)	
MDRD (ml/mn/1.73m2)	G1	>90	126	(64,3%)	128	(65,3%)	0.000
	G2	60-89	51	(26,0%)	51	(26%)	
	G3a	45-59	8	(4,1%)	7	(3,6%)	
	G 3b	29-44	7	(3,6%)	5	(2,6%)	
	G4	15-29	2	(1%)	3	(1,5%)	
	G5	<15	2	(1%)	2	(1%)	

3.2.7.3 Cas du DFG calculé par la formule de CKD-EPI:

Gradation des niveaux de risqué en fonction du DFG			Méthode de Jaffé modifiée		Méthode enzymatique		P
			n	(%)	n	(%)	
CKD-EPI (ml/mn/1.73m2)	G1	>90	138	(70,4%)	139	(70,9%)	0.000
	G2	60-89	39	(19,9%)	40	(20,4%)	
	G3a	45-59	8	(1%)	7	(1%)	
	G 3b	29-44	7	(1%)	6	(1%)	
	G4	15-29	2	(4,1%)	2	(3,6%)	
	G5	<15	2	(3,6%)	2	(3,1%)	

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.2.7.4 Cas du DFG calculé par la formule de BIS I :

Gradation des niveaux de risqué en fonction du DFG			Méthode de Jaffé modifiée		Méthode enzymatique		P
			n	(%)	n	(%)	
BIS I (ml/mn/1.73m2)	G1	>90	1	(3,70%)	2	(7,41%)	0.000
	G2	60-89	15	(55,56%)	14	(51,85%)	
	G3a	45-59	8	(29,63%)	8	(29,63%)	
	G 3b	29-44	2	(7,41%)	2	(7,41%)	
	G4	15-29	0	(0%)	0	(0%)	
	G5	<15	1	(3,7%)	1	(3,70%)	

3.2.7.5 Cas du DFG calculé par la formule de Schwartz :

Gradation des niveaux de risqué en fonction du DFG			Méthode de Jaffé modifiée		Méthode enzymatique		P
			n	(%)	n	(%)	
Schwartz (ml/mn)	G1	>90	19	(95%)	20	(100%)	0.014
	G2	60-89	1	(5%)	0	(0%)	
	G3a	45-59	0	(0%)	0	(0%)	
	G 3b	29-44	0	(0%)	0	(0%)	
	G4	15-29	0	(0%)	0	(0%)	
	G5	<15	0	(0%)	0	(0%)	

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.3 Relation entre La clairance/ DFG estimé et la créatinine sanguine :

3.3.1 Cas de formule Cockcroft & Gault (CG) :

Méthode enzymatique :

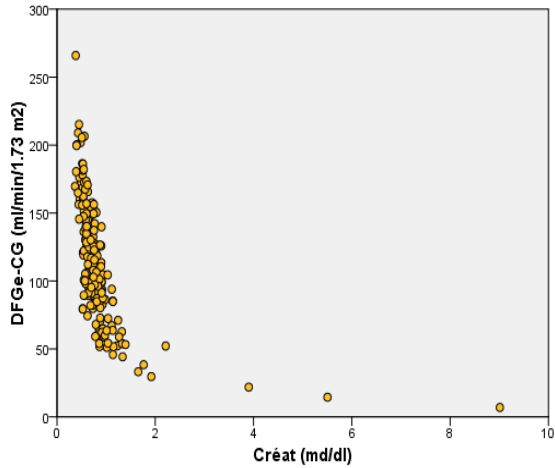


Figure 21: représentation graphique de la relation clairance(CG) -Créat enzymatique

Méthode de Jaffé modifiée :

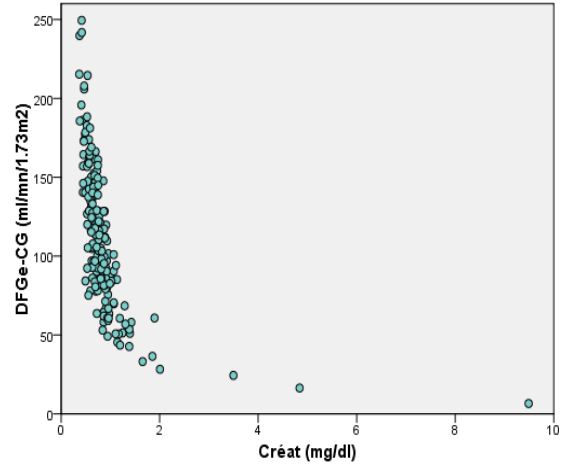


Figure 22:représentation graphique de la relation clairance(CG)-Créat Jaffé

3.3.2 Cas de formule MDRD :

Méthode enzymatique :

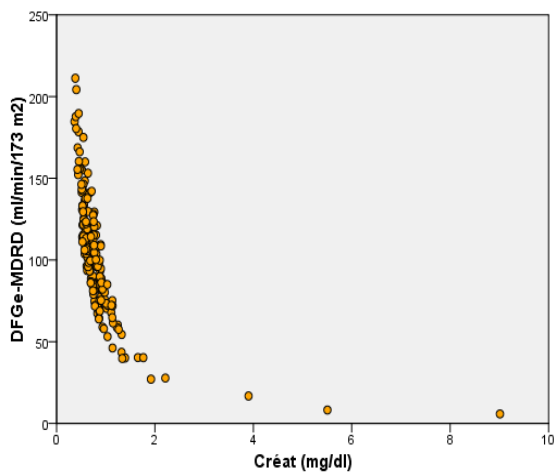


Figure 24:représentation graphique de la relation DFG (MDRD)-Créat enzymatique

Méthode de Jaffé modifiée :

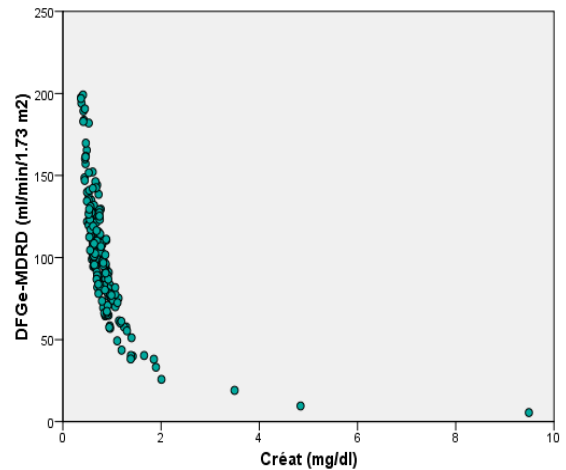


Figure 23:représentation graphique de la relation DFG (MDRD) -Créat Jaffé

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.3.3 Cas de formule CKD-EPI :

Méthode enzymatique :

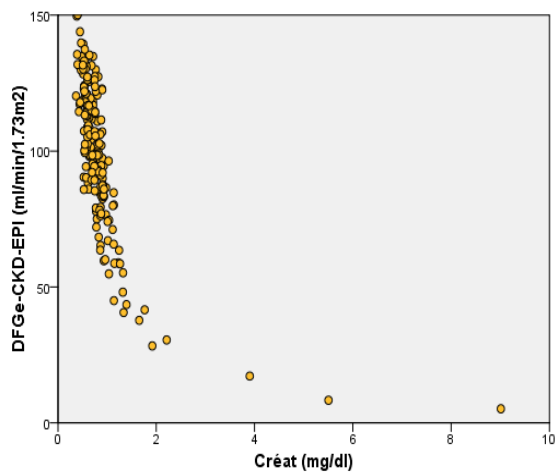


Figure 25:représentation graphique de la relation DFG (CKD-EPI)-Créat enzymatique

Méthode de Jaffé modifiée :

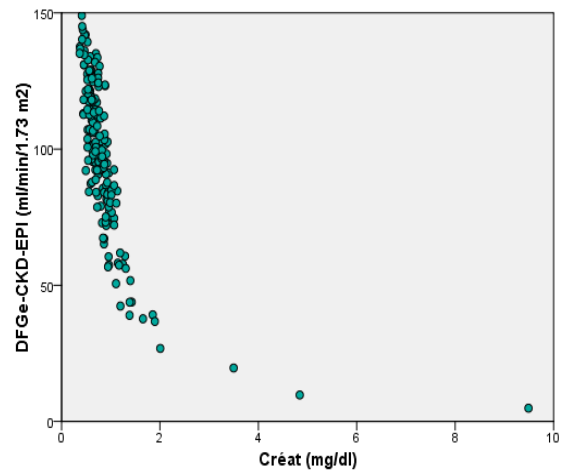


Figure 26:représentation graphique de la relation DFG (CKD-EPI)-Créat Jaffé

3.3.4 Cas de formule BIS I (sujets âgés plus de 70 ans) :

Méthode enzymatique :

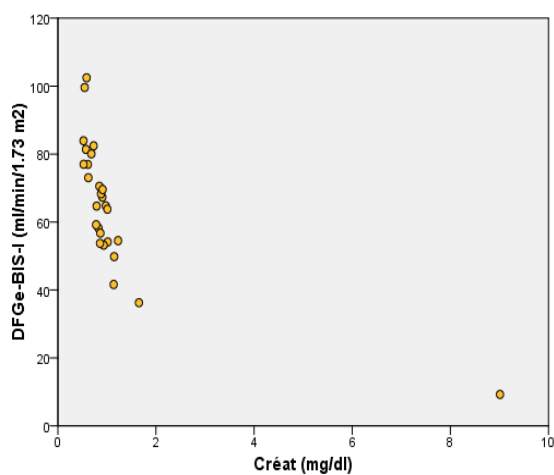


Figure 28:représentation graphique de la relation DFG (BIS I)-Créat enzymatique

Méthode de Jaffé modifiée :

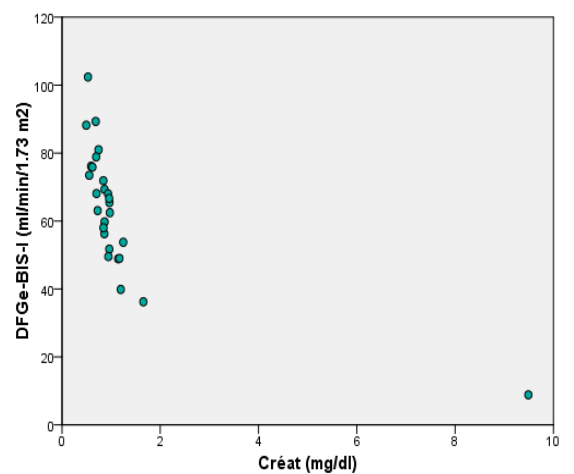


Figure 27:représentation graphique de la relation DFG (CKD-EPI)-Créat Jaffé

3.3.5 Cas de formule de Schwartz (pour les enfants moins de 18 ans) :

Méthode enzymatique :

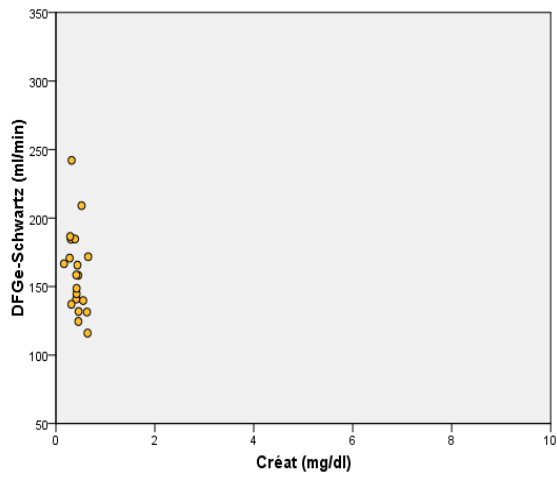


Figure 30:représentation graphique de la relation DFG (Schwartz)-Créat enzymatique

Méthode de Jaffé modifiée :

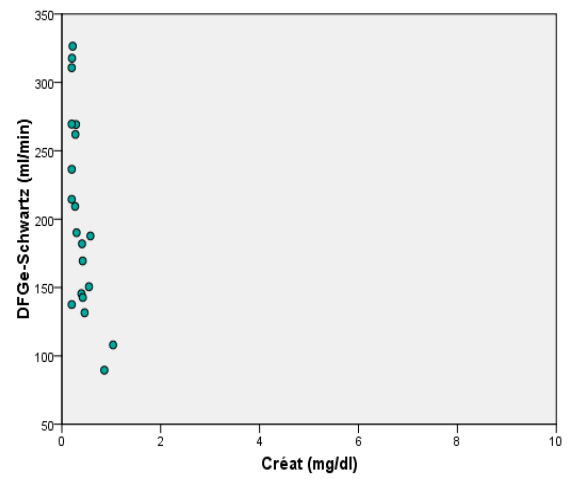


Figure 29:représentation graphique de la relation DFG (Schwartz)-Créat Jaffé

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.3.6 Corrélation entre l'âge et le DFGe (Formule CKD-EPI) :

- Chez les adultes (Formule CKD-EPI) :**

a- Méthode de Jaffé modifiée :

Variables		Age (années)	DFGe (ml/min/1.73m ²)
Age (années)	Corrélation de Spearman	1	-0,754
DFGe (ml/min/1.73m ²)		-0,754	1
P		0,000	0,000

b- Méthode enzymatique :

Variables		Age (années)	DFGe (ml/min/1.73m ²)
Age (années)	Corrélation de Spearman	1	-0,762
DFGe (ml/min/1.73m ²)		-0,762	1
P		0,000	0,000

- Chez les enfants (<18 an) (Formule Schwartz):**

a- Méthode de Jaffé modifiée :

Variables		Age (années)	DFGe (ml/min)
Age (années)	Corrélation de Spearman	1	-0,265
DFGe (ml/min)		-0,265	1
P		0,259	0,259

b- Méthode enzymatique :

Variables		Age (années)	DFGe (ml/min)
Age (années)	Corrélation de Spearman	1	-0,011
DFGe (ml/min)		-0,011	1
P		0,965	0,965

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.3.7 Corrélation entre l'IMC et le DFGe (Formule CKD-EPI) :

- Chez les adultes (Formule CKD-EPI):**

a- Méthode de Jaffé modifiée :

Variables		IMC (kg/m ²)	DFGe (ml/min/1.73m ²)
IMC (kg/m ²)	Corrélation de Spearman	1	-0,152
DFGe (ml/min/1.73m ²)		-0,152	1
P		0,033	0,033

b- Méthode enzymatique :

Variables		IMC (kg/m ²)	DFGe (ml/min/1.73m ²)
IMC (kg/m ²)	Corrélation de Spearman	1	-0,158
DFGe (ml/min/1.73m ²)		-0,158	1
P		0,027	0,027

- Chez les enfants (<18 an) (Formule Schwartz):**

a- Méthode de Jaffé modifiée :

Variables		IMC (kg/m ²)	DFGe (ml/min)
IMC (kg/m ²)	Corrélation de Spearman	1	-0,155
DFGe (ml/min)		-0,155	1
P		0,514	0,514

b- Méthode enzymatique :

Variables		IMC (kg/m ²)	DFGe (ml/min)
IMC (kg/m ²)	Corrélation de Spearman	1	0,003
DFGe (ml/min)		0,003	1
P		0,990	0,990

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.4 Evaluation de la performance analytique des deux méthodes :

L'évaluation a été faite selon les recommandations de la SFBC de la stratégie 1: vérification des performances analytiques des méthodes quantitatives, les paramètres concernés sont résumés dans le tableau présenté ci-dessous [62]:

Module		Vérification des performances
Fidélité	Répétabilité	B et E
	Reproductibilité	B et E
Justesse		B et E si possible
Limite de détection		B ou E si intérêt
Intervalle de mesure		B
Limite inférieure de quantification		B ou E
Effet de dilution		B ou E si intérêt
Contamination inter-échantillon		B ou E si intérêt
Evaluation de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine et de la turbidité des échantillons		B si intérêt
Spécificité analytique		B
Sélectivité		B
Stabilités	- Réactifs	B ou E si intérêt
	- Etalons	B ou E si intérêt
	- Echantillons biologiques	B ou E si intérêt
Exactitude		B si possible

E : essai

B : bibliographie

3.4.1 La méthode de Jaffé modifiée :

3.4.1.1 Fidélité :

L'étude de la fidélité inclue celle de :

- La répétabilité
- La fidélité intermédiaire (reproductibilité)

a- Répétabilité :

On a préparé 2 pools :

- N : valeurs normales
- P : valeurs pathologiques

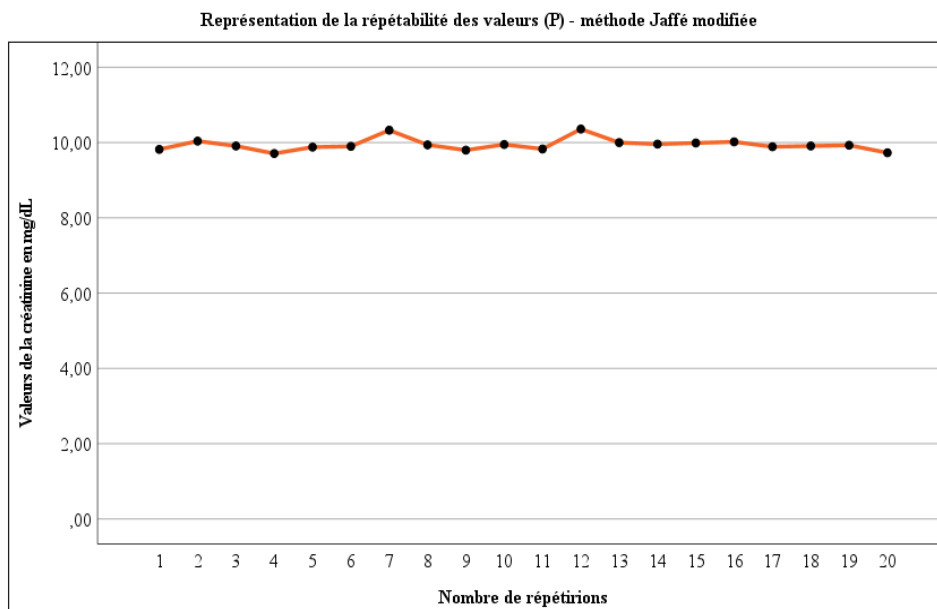
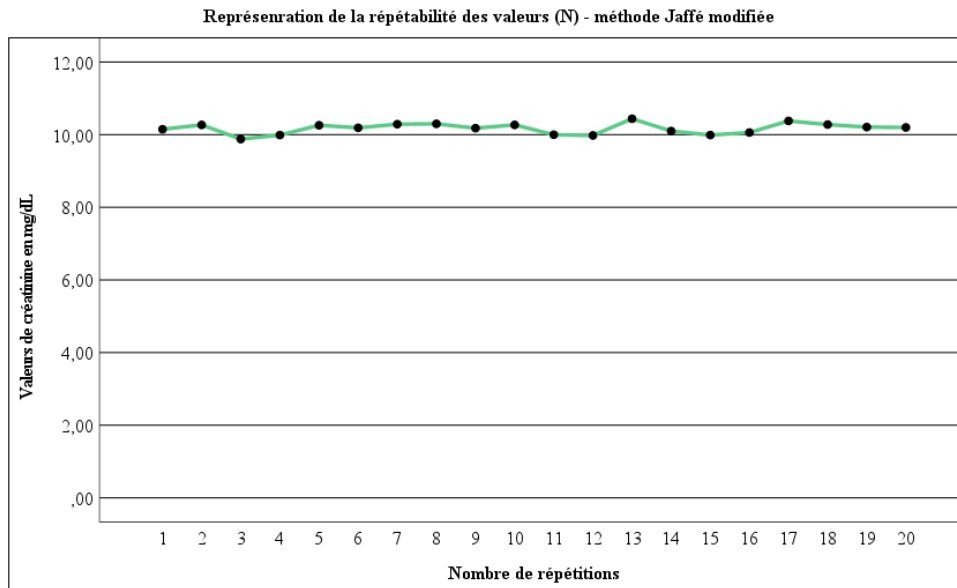
Ces pools sont testés 20 fois au cours d'une même journée et dans les mêmes conditions.

Tableau 10: Résultats de l'étude de la répétabilité de la méthode de Jaffé modifiée

	CREJ2	
	(N)	(P)
1	10,15	38,12
2	10,27	37,81
3	9,88	37,66
4	9,99	36,8
5	10,26	36,85
6	10,19	36,99
7	10,29	36,5
8	10,3	37,06
9	10,18	36,68
10	10,27	37,23
11	10	38,39
12	9,98	37,43
13	10,44	37
14	10,1	37,06
15	9,99	36,68
16	10,06	36,81
17	10,38	37,73
18	10,28	37,2
19	10,21	36,83
20	10,2	36,85
moyenne (mg/l)	10,171	37,184
Nombre de tests (n)	20	20
Ecart-type (s)	0,149	0,514
Coefficient de variation (CV) %	1,47%	1,38%
(CV)% annoncé par le fournisseur	1.4 %	0.8 %
Coefficient de variation limite[62]	4,5%	2,6%

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

* Représentation graphique :



PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

b- Reproductibilité :

Le protocole appliqué pour l'étude de reproductibilité comprend 30 déterminations sur 5 jours (séries) avec 6 déterminations pour chaque série et ceci pour chacun des pools :

- N : valeurs normales
- P : valeurs pathologiques

Le calcul des écarts-types de fidélité intermédiaire a été réalisé en effectuant l'analyse de la variance (ANOVA) d'un modèle à effet aléatoire, selon les principes décrits de la norme ISO 5725 [63]

Tableau 11: Résultats de l'étude de reproductibilité de la méthode de Jaffé modifiée pour les valeurs (N)

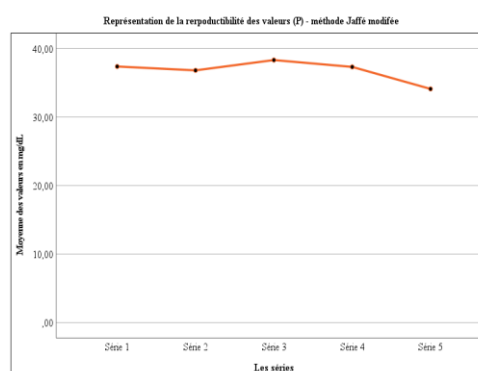
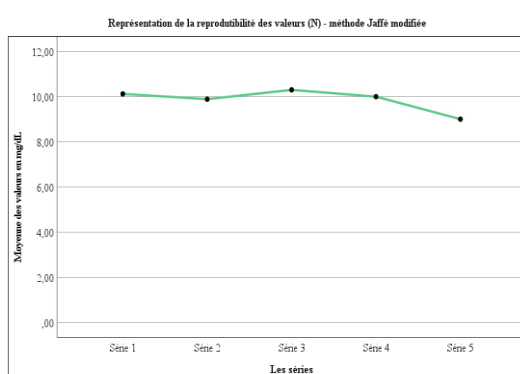
Les jours (séries)	CREJ2 (N)					
	valeur 1	valeur 2	valeur 3	valeur 4	valeur 5	valeur 6
série 1	10,15	10,27	9,88	9,99	10,26	10,19
série 2	10,01	9,82	10,03	9,93	10,06	9,48
série 3	10,52	10,32	10,12	10,41	10,34	10,10
série 4	9,83	9,91	9,99	9,94	9,94	10,39
série 5	9,07	9,03	8,88	9,06	8,86	9,12
Moyenne (mg/L)	9,86					
Ecart-type (s)	0,545					
Intervalle de confiance de l'écart-type IC(s)	Limite supérieure	0,74				
	Limite inférieure	0,35				
Coefficient de variation (CV)%	5,53%					
Valeur annoncée par le fournisseur	2,80%					
(CV)% limite [59]	6.2					

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

Tableau 12: Résultats de l'étude de reproductibilité de la méthode de Jaffé modifiée pour les valeurs (P)

CREJ2 (P)						
Les jours (séries)	valeur 1	valeur 2	valeur 3	valeur 4	valeur 5	valeur 6
série 1	38,12	37,81	37,66	36,80	36,85	36,99
série 2	38,32	36,48	37,73	36,64	35,34	36,34
série 3	37,90	39,16	38,16	38,32	37,98	38,35
série 4	37,11	37,86	37,26	37,37	36,52	37,75
série 5	34,41	34,22	34,11	33,99	34,66	33,22
Moyenne (mg/L)	36,78					
Ecart-type (s)	1,70					
Intervalle de confiance de l'écart-type IC(s)	Limite supérieure	2,31				
	Limite inférieure	1,09				
Coefficient de variation (CV)%	5%					
Valeur annoncée par le fournisseur (CV)% limite [59]	1,30%					
	6.2					

- Représentation graphique :



PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.4.1.2 Justesse :

La justesse est quantifiée par le biais relatif estimé en comparant la moyenne obtenue (m) lors de l'étude de fidélité intermédiaire à la valeur conventionnellement vraie (v) de l'échantillon testé.

$$\text{Biais relatif (\%)} = 100 \times ((m-v)/v)$$

On peut ainsi déduire la justesse pour chacun des deux niveaux (N) et (P)

Tableau 13: Résultats de l'étude de la justesse de la méthode de Jaffé modifiée

		CREJ2	
		(N)	(P)
Moyenne de fidélité intermédiaire	(mg/L)	9,86	36,78
Valeur conventionnellement vraie	(mg/L)	10,6	38,4
Biais (biais relatif)	(mg/L)	-0,74	-1,62
	(%)	-6,95%	-4,22%
Justesse	(%)	93,05%	95,78%
Limite acceptable du biais relatif		7,8%	7,6%

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.4.2 La méthode enzymatique :

3.4.2.1 Fidélité :

L'étude de la fidélité inclue celle de :

- La répétabilité
- La fidélité intermédiaire (reproductibilité)

a- Répétabilité :

On a préparé 2 pools :

- N : valeurs normales
- P : valeurs pathologiques

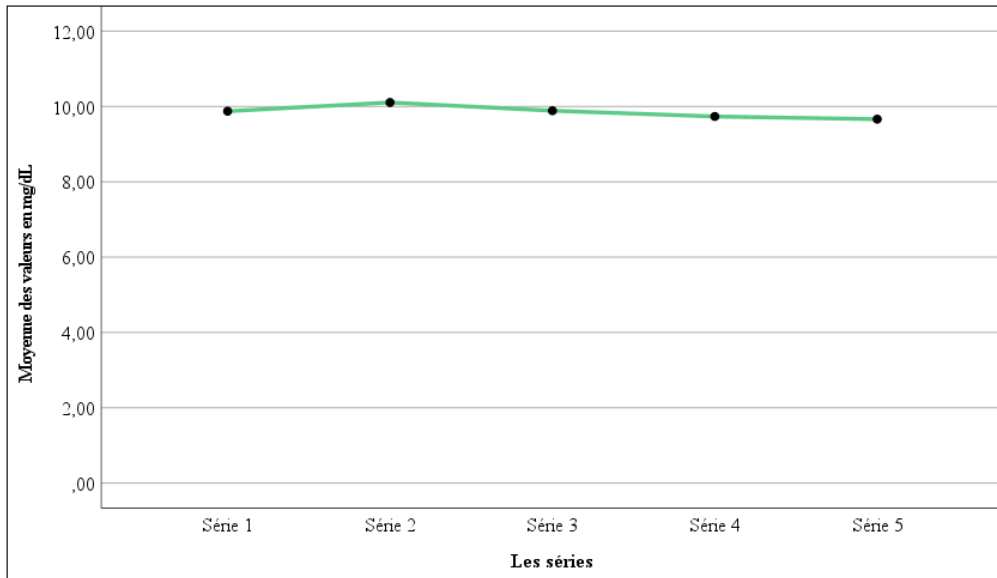
Ces pools sont testés 20 fois au cours d'une même journée et dans les mêmes conditions.

Tableau 5: Résultats de l'étude de la répétabilité de la méthode enzymatique

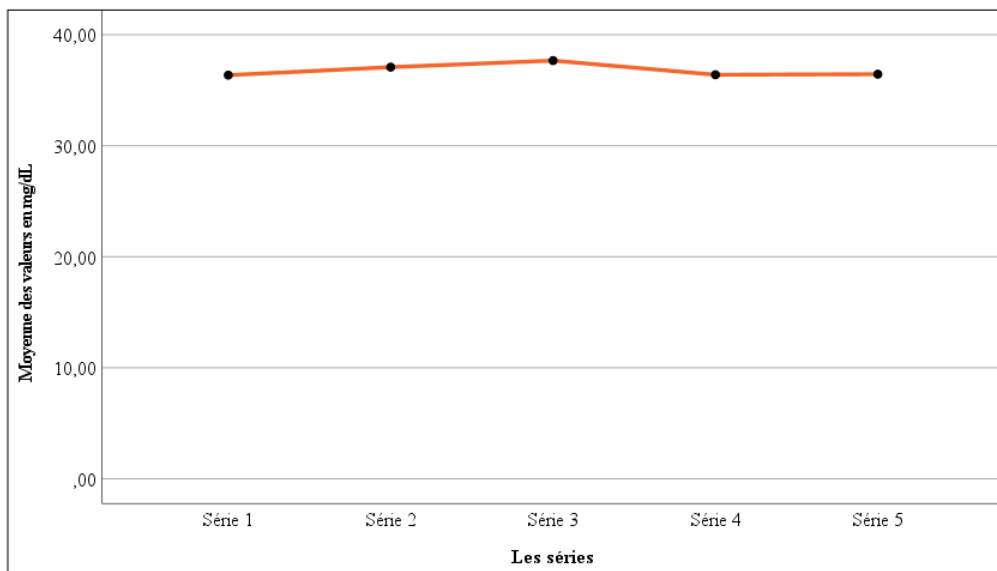
	CREP 2	
	(N)	(P)
1	9,82	36,73
2	10,04	35,79
3	9,91	36,98
4	9,71	36,44
5	9,88	35,95
6	9,9	36,3
7	10,33	35,75
8	9,94	36,92
9	9,8	36,14
10	9,95	35,77
11	9,83	36,9
12	10,36	36,81
13	10	36,35
14	9,96	36,19
15	9,99	37,94
16	10,02	36,49
17	9,89	37,3
18	9,91	36,52
19	9,93	35,98
20	9,73	36,41
moyenne (mg/l)	9,945	36,483
Nombre de tests (n)	20	20
Ecart-type (s)	0,163	0,557
Coefficient de variation (CV) %	1,64%	1,53%
(CV)% annoncé par le fournisseur	1.6 %	0.7 %
Coefficient de variation limite[62]	4,5%	2,6%

- **Représentation graphique :**

Représentation de la reproductibilité des valeurs (N) - méthode enzymatique



Représentation de la reproductibilité des valeurs (P) - méthode enzymatique



b- Reproductibilité :

Le protocole appliqué pour l'étude de reproductibilité comprend 30 déterminations sur 5 jours (séries) avec 6 déterminations pour chaque série et ceci pour chacun des pools :

- N : valeurs normales
- P : valeurs pathologiques

Tableau 6: Résultats de l'étude de reproductibilité de la méthode enzymatique pour les valeurs (N)

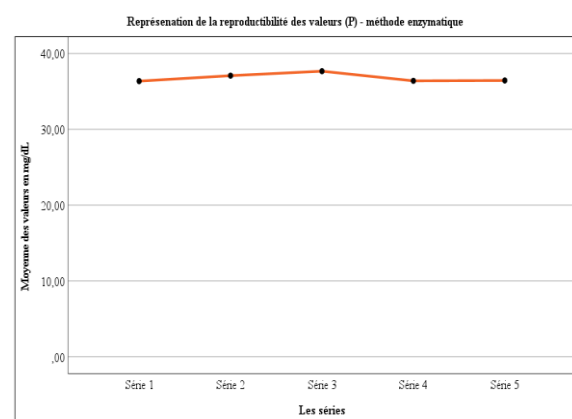
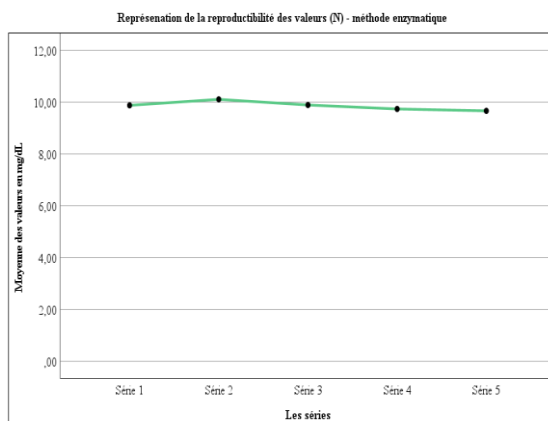
CREP 2 (N)						
Les jours (séries)	valeur 1	valeur 2	valeur 3	valeur 4	valeur 5	valeur 6
série 1	9,82	10,04	9,91	9,71	9,88	9,9
série 2	9,98	10,08	10,17	10,4	10,26	9,76
série 3	10,08	9,77	9,74	9,92	9,96	9,87
série 4	9,82	9,75	9,83	9,41	9,66	9,95
série 5	9,72	9,84	9,97	9,61	9,34	9,51
Moyenne (mg/L)	9,86					
Ecart-type (s)	0,228					
Intervalle de confiance de l'écart-type IC(s)	Limite supérieure	0,31				
	Limite inférieure	0,15				
Coefficient de variation (CV)%	2,32%					
Valeur annoncée par le fournisseur	1,30%					
(CV)% limite [59]	6.2					

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

Tableau 7: Résultats de l'étude de reproductibilité de la méthode enzymatique pour les valeurs (P)

CREP 2 (P)						
Les jours (séries)	valeur 1	valeur 2	valeur 3	valeur 4	valeur 5	valeur 6
série 1	36,73	35,79	36,98	36,44	35,95	36,3
série 2	38,48	35,98	38,08	36,19	35,82	37,96
série 3	38,00	37,00	37,76	37,11	38,28	37,9
série 4	36,91	36,21	36,22	35,93	36,1	37,04
série 5	37,59	36,69	34,42	37,53	36,71	35,76
Moyenne (mg/L)	36,80					
Ecart-type (s)	0,96					
Intervalle de confiance de l'écart-type IC(s)	Limite supérieure	1,31				
	Limite inférieure	0,62				
Coefficient de variation (CV)%	2,61%					
Valeur annoncée par le fournisseur	0,9%					
(CV)% limite [59]	6.2					

- Représentation graphique :



3.4.2.2 Justesse :

Tableau 8: Résultats de l'étude de la justesse de la méthode enzymatique

		CREP 2	
		(N)	(P)
Moyenne de fidélité intermédiaire	(mg/L)	9,86	36,93
Valeur conventionnellement vraie	(mg/L)	9,68	36,80
Biais relatif	(mg/L)	0,18	0,13
	(%)	1,81%	0,35%
Justesse	(%)	98,19%	99,65%
Limite acceptable du biais relatif		7,8%	7,6%

3.4.3 Comparaison des performances analytiques :

3.4.3.1 Répétabilité :

Tableau 14: Résumé des résultats de répétabilité des deux méthodes étudiées

	(N)		P	(P)		P
	CREJ2	CREP2		CREJ2	CREP2	
Moyenne (mg/L)	10,171	9,945		37,184	36,483	
Ecart-type (s)	0,149	0,163		0,514	0,557	
Coefficient de variation (CV) %	1,47%	1,64%	0.638	1,38%	1,53%	0.657

3.4.3.2 Reproductibilité :

Tableau 15: Résumé des résultats de reproductibilité des deux méthodes étudiées

	(N)		P	(P)		P
	CREJ2	CREP2		CREJ2	CREP2	
Moyenne (mg/L)	9,86	9,945		36,78	36,80	
Ecart-type (s)	0,545	0,163		1,70	0,96	
Coefficient de variation (CV)%	5,53%	1,64%	0.000	5%	2,61%	0.001

3.4.3.3 Justesse :

Tableau 16: Résumé des résultats de la justesse des deux étudiées

	(N)		P	(P)		P
	CREJ2	CREP2		CREJ2	CREP2	
Moyenne de fidélité intermédiaire	9,86	9,86	0,017	36,78	36,93	0,037
Biais (%)	-6,95%	1,81%		-4,22%	0,35%	
Justesse (%)	93,05%	98,19%		95,78%	99,65%	

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.4.4 Autres paramètres :

Les autres paramètres d'évaluation sont extraits à partir des données bibliographiques :

Tableau 17: Tableau récapitulatif de l'évaluation bibliographique des autres paramètres analytiques

		Méthode de Jaffé modifiée	Méthode enzymatique
Limite de détection		Cas des marqueurs qui sont normalement non quantifiables	
Limites de linéarité	Limite inférieure de linéarité (limite de quantification)	0,2 mg/dL	0.057 mg/dL
	Limite supérieure de linéarité	14,7 mg/dL	30.5 mg/dL
	Effet dilution	Sans intérêt pour la créatinine	
Exactitude		Manque de données bibliographiques	
Contamination inter-échantillons			
Spécificité analytique (Influence d'autres substances)	Pyruvate *	Macroglobulinémie de Waldenström (rare)	
	Acide ascorbique * (+)	La créatine *	
(*) : influence à concentration élevée (+) : surestimation (-) : sous-estimation	Antibiotiques contenant du céphalosporine.	Acide ascorbique *	
	Céfoxitine.	Phénindione (-)	
	Corps cétoniques.	Rifampicine	
	(-)	Lévodopa	
	Hydroxocobalamine	Dobésilate de calcium	
		L'étamsylate métyldopa	
		N-acétylcystéine et NAPQI *	
		métamizole (+)	
		N-éthylglycine	
		DL-proline	
Sélectivité		Manque de données bibliographiques	

	Méthode de Jaffé modifiée	Méthode enzymatique
Évaluation de l'influence de l'hémolyse, de la bilirubine et de la turbidité des échantillons	Ictère: Pas d'interférence significative jusqu'à concentration approximative 85 µmol/L ou 5 mg/dL en bilirubine conjuguée et non conjuguée (indice I de 5)	Ictère: Pas d'interférence significative jusqu'à concentration approximative 340 µmol/L ou 20 mg/dL en bilirubine conjuguée et non conjuguée (indice I de 20)
	Hémolyse: Pas d'interférence significative jusqu'à concentration approximative 497 µmol/L ou 800 mg/dL en hémoglobine (indice H de 800) Ne pas utiliser ce test pour mesurer la créatinine dans les échantillons hémolysés des nouveau-nés, des enfants ou des adultes avec HbF ≥ 60 mg/dL	Hémolyse: Pas d'interférence significative jusqu'à concentration approximative 497 µmol/L ou 800 mg/dL en hémoglobine (indice H de 800)
	Lipémie: Pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 250. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité (indice L) et la concentration en triglycérides.	Lipémie: Pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 1000. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité (indice L) et la concentration en triglycérides.
Étude de la stabilité des échantillons des réactifs et des étalons	Mentionnée dans la partie : matériels et méthodes ci-dessus	

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.5 Comparaison technique et économique :

		Méthode de Jaffé modifiée	Méthode enzymatique
Mode de mesure			Absorbance
Mode de calcul		Cinétique	Point final
Sens de la réaction			Croissant
Longueur d'onde A/B		512/583 nm	552/659 nm
Unité (SI)			μmol/L
Facteur de conversion		mg/dL x 88,40 = μmol/L mg/dL x 10 = mg/L	
Paramètres de pipetage	R1	13 μL + 71 μL(D)	77 μL
Diluant (D): H₂O	Echantillon	10 μL + 20 μL(D)	2 μL + 5 μL (D)
	SR	17 μL + 16 μL(D)	38 μL
	Volume total	147 μL	122 μL
Type d'échantillon		Sérum, plasma	
Durée de mesure		9 min	11 min
Nombre de tests par cassette		700	250
Prix/test		12,15 Da	72,88 Da

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.6 Evaluation de concordance des deux méthodes :

3.6.1 Comparaison des deux méthodes de dosage de la créatinine :

Dans cette étape, on a dosé 216 échantillons des patients par les deux méthodes : la méthode de Jaffé modifiée et la méthode enzymatique.

La régression de Passing et Bablok :

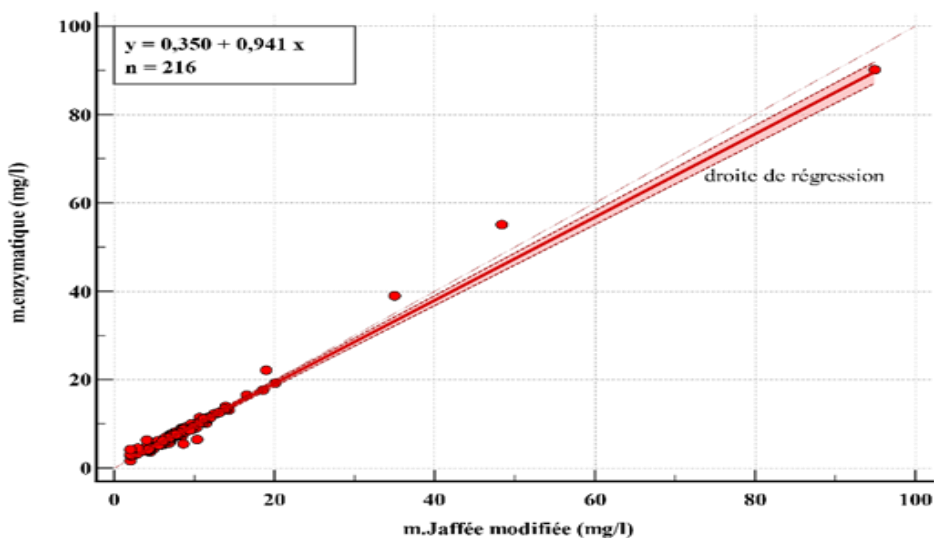


Figure 31: Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok

Variable X	m.Jaffé modifiée	
Variable Y	m.enzymatique	
Taille de l'échantillon	216	
	Variable X	Variable Y
Valeur la plus basse	2,0000	1,6500
Valeur la plus élevée	94,9000	90,1200
Moyenne arithmétique	8,0675	8,0234
Médiane	7,0050	6,8950
Écart type	7,3846	7,3432
Erreur type de la moyenne	0,5025	0,4996
Équation de régression	$y = 0,350356 + 0,940653 x$	
Différences systématiques		
Intersection A	0,3504	
IC à 95 %	0,1770 à 0,5619	
Différences proportionnelles		
Pente B	0,9407	
IC à 95 %	0,9152 à 0,9621	
Validité du modèle linéaire		
Test Cusum de linéarité	Aucun écart significatif par rapport à la linéarité (P=0.40)	

Analyse graphique de Bland-Altman :

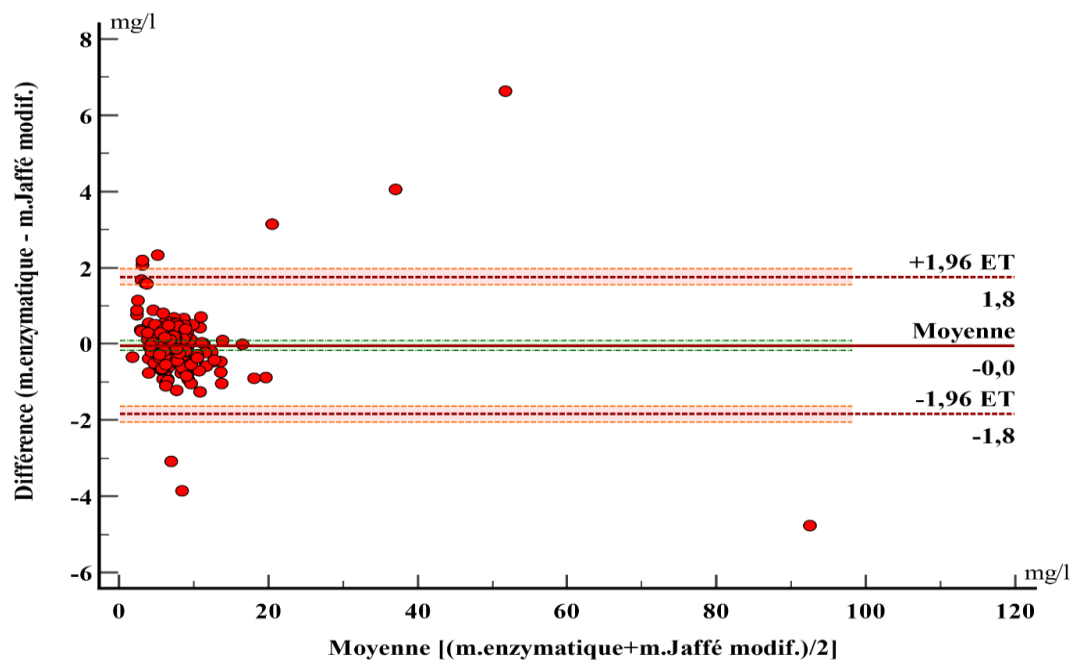


Figure 32: Représentation graphique du graph de Bland-Altman

Méthode A	m.enzymatique
Méthode B	m.Jaffé modifiée
Taille de l'échantillon	216
Moyenne arithmétique	-0,04412
Intervalle de confiance à 95%	-0,1673 à 0,07909
P (H₀ : Moyenne = 0)	0,4811
Limite inférieure	-1,8448
Intervalle de confiance à 95%	-2,0557 à -1,6339
Limite supérieure	1,7566
Intervalle de confiance à 95%	1,5457 à 1,9675

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.6.2 Comparaison des deux méthodes utilisées dans le calcul de chaque formule :

3.6.2.1 Cas de formule (CG) (normalisée) :

La régression de Passing et Bablok :

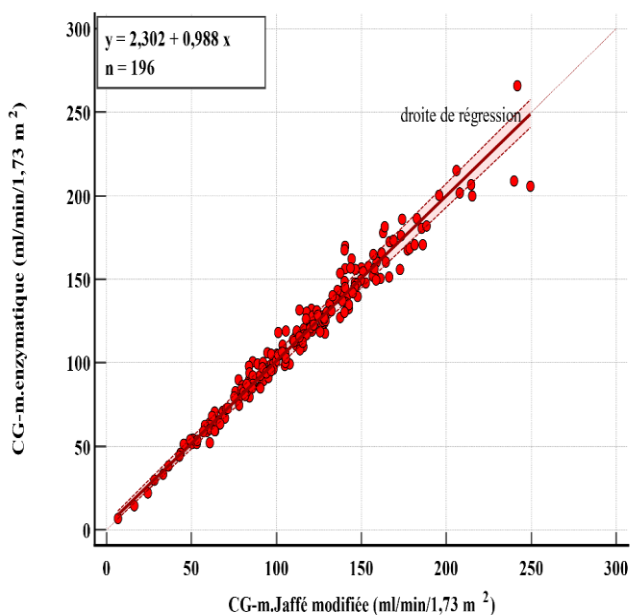


Figure 33: Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok-formule CG

Variable X	CG-m.enzymatique	
Variable Y	CG-m. Jaffé modifiée	
Taille de l'échantillon	196	
	Variable X	Variable Y
Valeur la plus basse	7,0640	7,4387
Valeur la plus élevée	293,8637	310,6994
Moyenne arithmétique	120,0072	121,3521
Médiane	117,2039	117,6471
Écart type	49,9347	49,0288
Erreur type de la moyenne	3,5668	3,5021
Équation de régression		
$y = 1,758040 + 0,995398 x$		
Différences systématiques		
Intersection A	1,7580	
IC à 95 %	-0,2099 à 4,0931	
Différences proportionnelles		
Pente B	0,9954	
IC à 95 %	0,9712 à 1,0200	
Validité du modèle linéaire		
Test Cusum de linéarité	Aucun écart significatif par rapport à la linéarité (P=0,89)	

Analyse graphique de Bland-Altman :

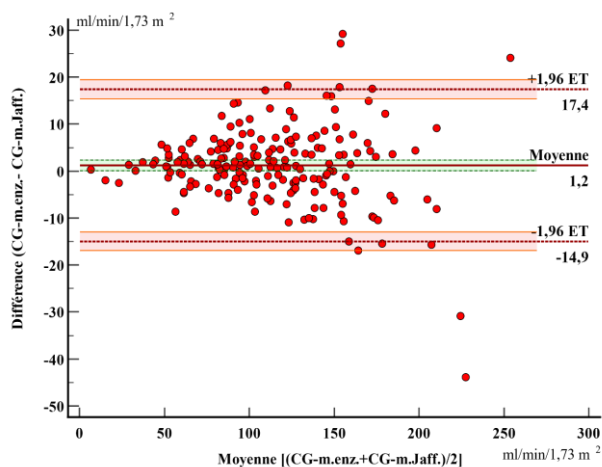


Figure 34: Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule CG

Méthode A	CG-m.enzymatique
Méthode B	CG-m. Jaffé modifiée
Taille de l'échantillon	196
Moyenne arithmétique	1,2431
Intervalle de confiance à 95%	0,07994 à 2,4062
P (H ₀ : Moyenne = 0)	0,0363
Limite inférieure	-14,9398
Intervalle de confiance à 95%	-16,9310 à -12,9487
Limite supérieure	17,4259
Intervalle de confiance à 95%	15,4348 à 19,4171

3.6.2.2 Cas de formule MDRD :

La régression de Passing et Bablok :

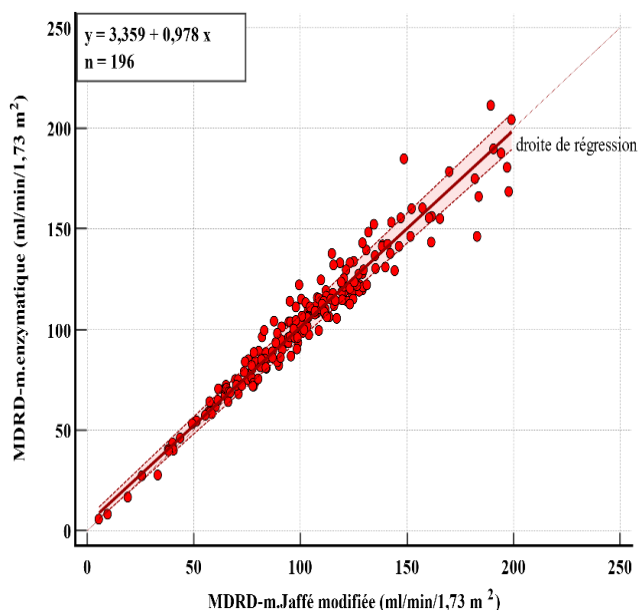


Figure 35: Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok-formule MDRD

Variable X	MDRD-m. Jaffé modifiée	
Variable Y	MDRD-m. enzymatique	
	Variable X	Variable Y
Valeur la plus basse	5,4956	5,8334
Valeur la plus élevée	199,1397	211,2624
Moyenne arithmétique	102,5028	103,9160
Médiane	100,6716	104,6212
Écart type	35,6865	34,9191
Erreur type de la moyenne	2,5490	2,4942
Équation de régression		
$y = 3,358662 + 0,978426 x$		
Différences systématiques		
Intersection A	3,3587	
IC à 95 %	0,6852 à 6,1441	
Différences proportionnelles		
Pente B	0,9784	
IC à 95 %	0,9479 à 1,0105	
Validité du modèle linéaire		
Test Cusum de linéarité	Aucun écart significatif par rapport à la linéarité (P=0,68)	

Analyse graphique de Bland-Altman :

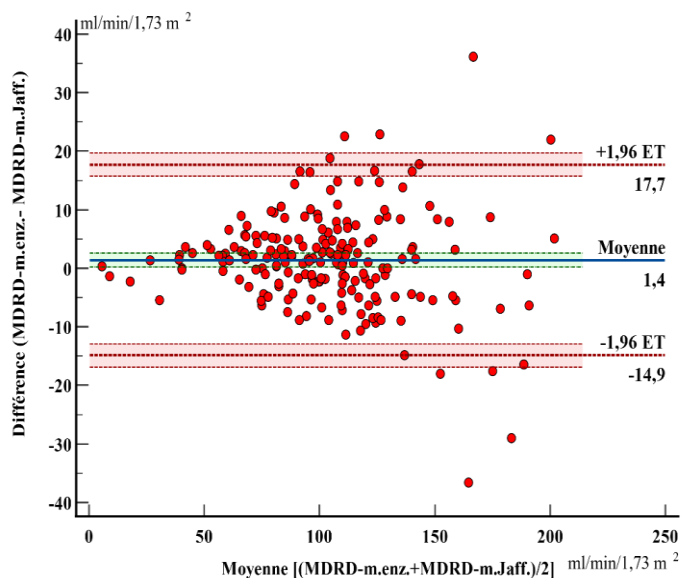


Figure 36: Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule MDRD

Méthode A	MDRD-m. enzymatique
Méthode B	MDRD-m. Jaffé modifiée
Taille de l'échantillon	196
Moyenne arithmétique	1,4131
Intervalle de confiance à 95%	0,2416 à 2,5847
P (H ₀ : Moyenne = 0)	0,0183
Limite inférieure	-14,8870
Intervalle de confiance à 95%	-16,8926 à -12,8814
Limite supérieure	17,7133
Intervalle de confiance à 95%	15,7077 à 19,7189

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.6.2.3 Cas de formule CKD-EPI :

La régression de Passing et Bablok :

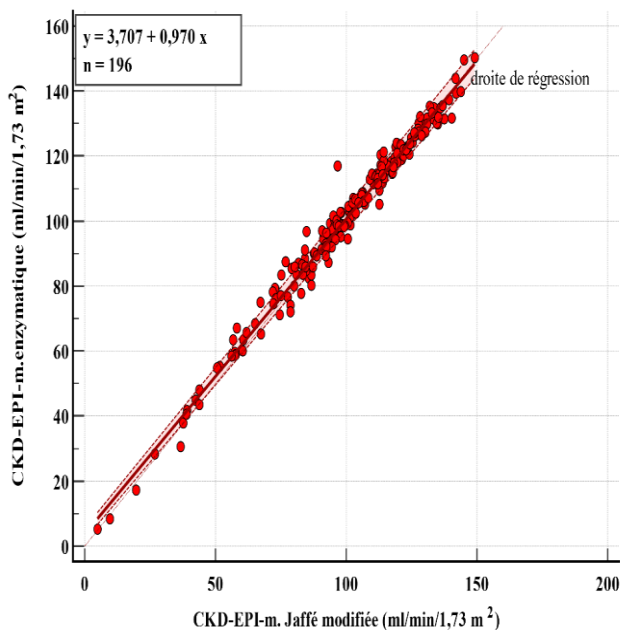


Figure 37: Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok -formule CKD-EPI

Variable X	CKD-EPI-m. Jaffé modifiée	
Variable Y	CKD-EPI-m. enzymatique	
Taille de l'échantillon	196	
	Variable X	Variable Y
Valeur la plus basse	4,8599	5,1733
Valeur la plus élevée	149,0839	150,1739
Moyenne arithmétique	98,8523	99,7893
Médiane	100,7985	101,8002
Écart type	27,0452	26,4959
Erreur type de la moyenne	1,9318	1,8926
Équation de régression	$y = 3,706940 + 0,969886 x$	
Différences systématiques		
Intersection A	3,7069	
IC à 95 %	2,0315 à 5,5410	
Différences proportionnelles		
Pente B	0,9699	
IC à 95 %	0,9517 à 0,9872	
Validité du modèle linéaire		
Test Cusum de linéarité	Aucun écart significatif par rapport à la linéarité (P=0,68)	

Analyse graphique de Bland-Altman :

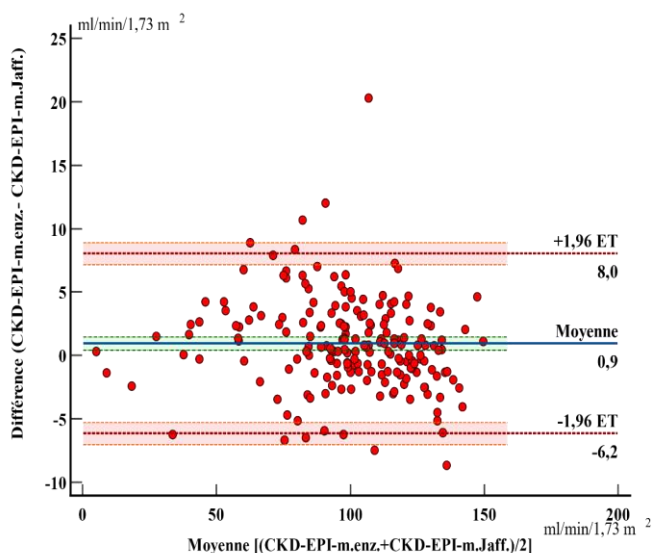


Figure 38: Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule CKD-EPI

Méthode A	CKD-EPI-m. enzymatique
Méthode B	CKD-EPI-m. Jaffé modifiée
Taille de l'échantillon	196
Moyenne arithmétique	0,9370
Intervalle de confiance à 95%	0,4274 à 1,4465
P (H₀ : Moyenne = 0)	0,0004
Limite inférieure	-6,1524
Intervalle de confiance à 95%	-7,0247 à -5,2801
Limite supérieure	8,0263
Intervalle de confiance à 95%	7,1541 à 8,8986

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.6.2.4 Cas de formule BIS I (pour les sujets de plus de 70 ans) :

La régression de Passing et Bablok :

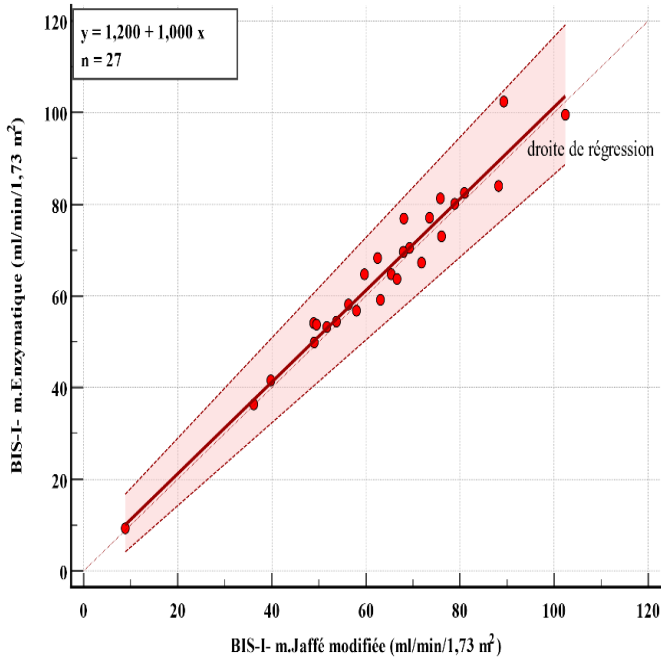


Figure 39 : Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok-formule BIS I

Variable X	BIS I-m. Jaffé modifiée	
Variable Y	BIS I-m. enzymatique	
Taille de l'échantillon	27	
	Variable X	Variable Y
Valeur la plus basse	8,8392	9,2458
Valeur la plus élevée	102,3893	102,4508
Moyenne arithmétique	63,4022	64,8996
Médiane	65,4201	64,7782
Écart type	18,7527	19,1482
Erreur type de la moyenne	3,6090	3,6851

Équation de régression

$$y = 1,200057 + 1,000128 x$$

Différences systématiques

Intersection A	1,2001
IC à 95 %	-3,8431 à 7,0497

Différences proportionnelles

Pente B	1,0001
IC à 95 %	0,9040 à 1,0951

Validité du modèle linéaire

Test Cusum de linéarité Aucun écart significatif par rapport à la linéarité (P=1,00)

Analyse graphique de Bland-Altman :

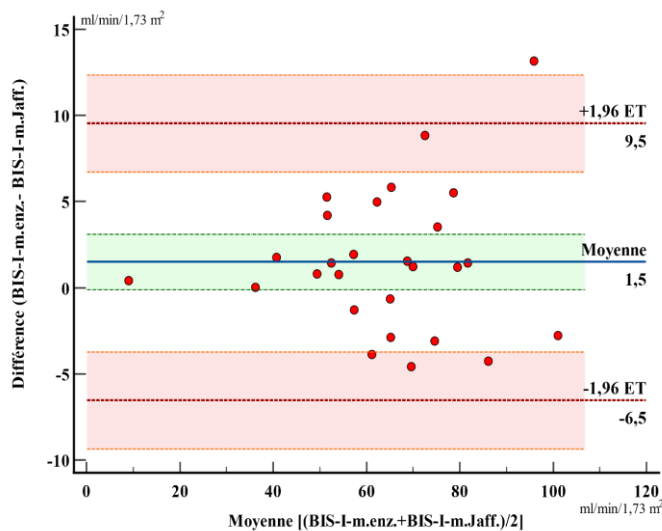


Figure 40 : Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule BIS I

Méthode A	BIS_I-m. enzymatique
Méthode B	BIS_I-m. Jaffé modifiée
Taille de l'échantillon	27
Moyenne arithmétique	1,4974
Intervalle de confiance à 95%	-0,1246 à 3,1194
P (H₀ : Moyenne = 0)	0,0689
Limite inférieure	-6,5389
Intervalle de confiance à 95%	-9,3457 à -3,7321
Limite supérieure	9,5337
Intervalle de confiance à 95%	6,7269 à 12,3406

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.6.2.5 Cas de formule de Schwartz (pour les enfants) :

La régression de Passing et Bablok :

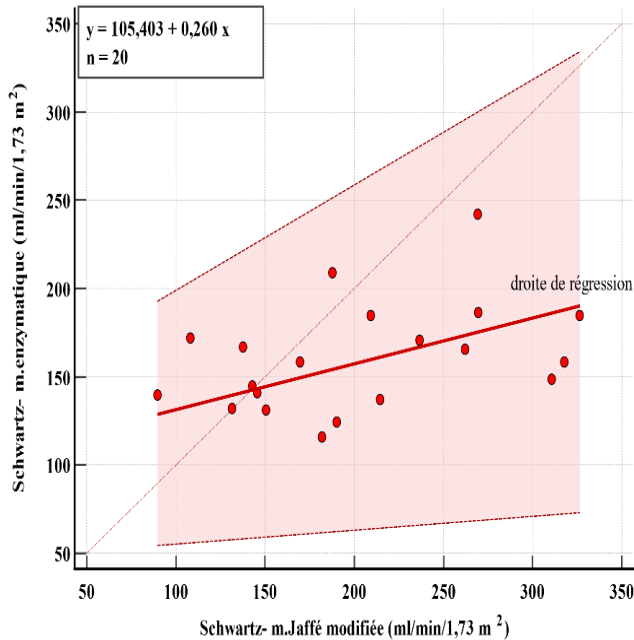


Figure 41: Figure 42: Représentation graphique de la régression de Passing et Bablok -formule Schwartz

Variable X	Schwartz-m. Jaffé modifiée
Variable Y	Schwartz-m. enzymatique
Taille de l'échantillon	20

	Variable X	Variable Y
Valeur la plus basse	89,5349	116,0156
Valeur la plus élevée	326,4840	242,1384
Moyenne arithmétique	202,5254	160,6635
Médiane	188,9085	158,3302
Écart type	71,2903	30,6690
Erreur type de la moyenne	15,9410	6,8578

Équation de régression

$$y = 105,403270 + 0,259527 x$$

Différences systématiques

Intersection A	105,4033
-----------------------	----------

IC à 95 %	47,3515 à 139,2125
------------------	--------------------

Différences proportionnelles

Pente B	0,2595
----------------	--------

IC à 95 %	0,07849 à 0,5973
------------------	------------------

Validité du modèle linéaire

Test Cusum de linéarité	Aucun écart significatif par rapport à la linéarité (P=0,72)
--------------------------------	--

Analyse graphique de Bland-Altman :

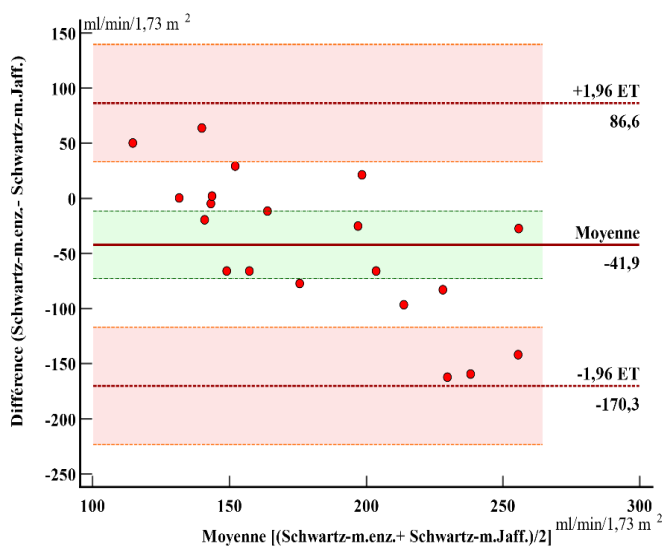


Figure 42: Représentation graphique du graph de Bland-Altman-formule Schwartz

Méthode A	Schwartz-m. enzymatique
Méthode B	Schwartz-m. Jaffé modifiée
Taille de l'échantillon	20
Moyenne arithmétique	-41,8619
Intervalle de confiance à 95 %	-72,5280 à -11,1958
P (H₀ : Moyenne = 0)	0,0101
Limite inférieure	-170,2886
Intervalle de confiance à 95 %	-223,5973 à -116,9799
Limite supérieure	86,5648
Intervalle de confiance à 95 %	33,2561 à 139,8736

PARTIE PRATIQUE : RESULTAT

3.6.3 Effet de l'hyperbilirubinémie sur la concordance des deux méthodes :

Pour étudier l'effet de la bilirubine sur la concordance des deux méthodes de dosage de la créatinine nous avons récolté et congelé après séparation du sérum 42 prélèvements sanguins ictériques prélevés sur tube sec ou hépariné, puis on leur a dosé simultanément et le même jour la teneur en créatinine par les deux méthodes (la méthode de Jaffé modifiée et la méthode enzymatique) et en bilirubine totale.

95,24% des valeurs de la créatinine (40 échantillons sur 42) sont comprises dans les valeurs normales de chacune des deux méthodes.

Les résultats sont présentés sur le graphique ci-dessous :

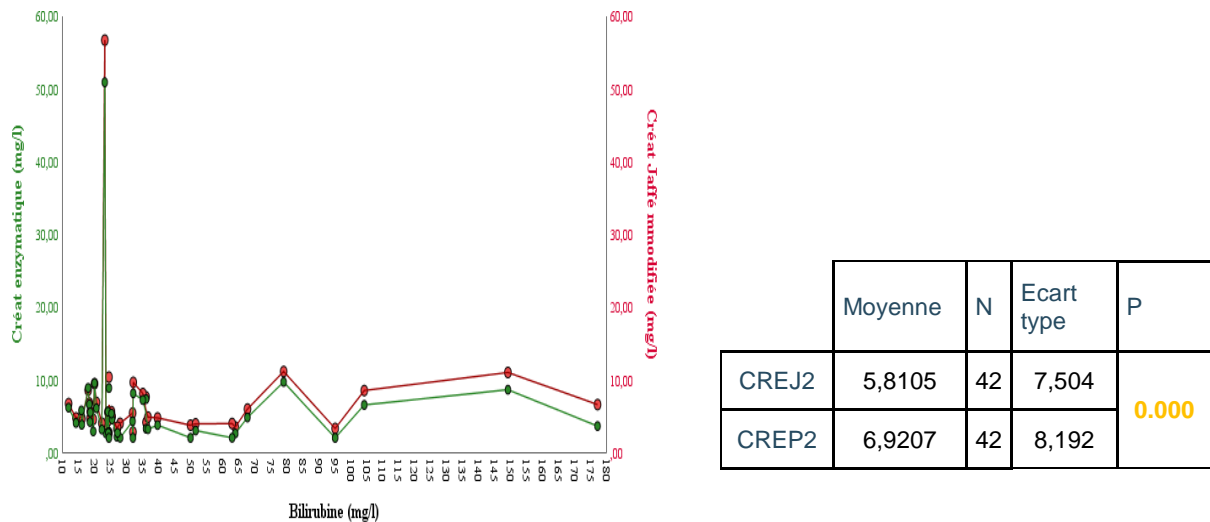


Figure 43:représentation graphique de l'effet de l'hyperbilirubinémie sur la concordance des deux méthodes du dosage de la créatinine

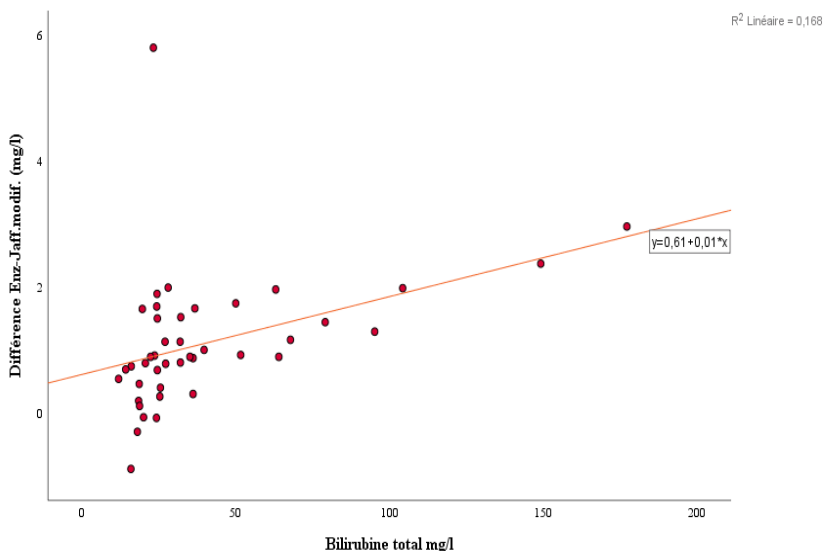


Figure 44:représentation graphique de la différence entre les deux méthodes de dosage de la créatinine en fonction des valeurs de la bilirubine totale

3.7 La performance clinique :

La procédure à suivre est celle établie par (Robert L. Schmidt et al), il faut comparer les DFGe basés sur les mesures de la créatinine sérique obtenues par les méthodes de Jaffé et enzymatiques, on analyse par la suite la discordance dans les DFGe à l'une des limites de décision ((15, 30, 45 ou 60 ml/min/1,73 m²).

Il faut désigner chacune des méthodes : établie (E) et nouvelle (N) (E=m.Jaffé et N=m.enzymatique dans le cas de notre laboratoire) mais les calculs mathématiques sont les mêmes quelle que soit la méthode désignée comme établie

Cette méthode nécessite la collecte des données suivantes :

- Les valeurs historiques pour la méthode établie (X_E) :

On calcul la médiane des valeurs du DFG estimé par CKD-EPI et celle de la SCr mesurée par la méthode N (Jaffé modifiée), cependant notre laboratoire ne dispose pas des données historiques du DFG ce qui empêche d'appliquer cette procédure dans son total.

- Les profils de précision pour chaque méthode ($s_E(x)$, $s_N(x)$) :

On les obtient à partir des équations de régression des tracés $CV=f(SCr)$ pour chaque méthode de dosage et on estime ainsi l'écart-type sur la plage des valeurs de SCr et du DFGe

Les coefficients de variation (CV) sont extraits à partir des essais de fidélité lors de la validation des méthodes de dosage.

- le taux de discordance observé, DR_{NE}^{obs} , à partir des données de comparaison des méthodes :

C'est le nombre d'observations discordantes divisé par le nombre total d'observations

On calcule ainsi le taux de discordance conditionnel selon la formule établie par (Robert L. Schmidt et al) [73][74].

DISCUSSION

DISCUSSION

4 Discussion :

La mesure de la créatinine sanguine constitue un acte de routine souvent demandé au laboratoire pour s'assurer du bon fonctionnement de la fonction rénale mais aussi un acte important sur le plan d'urgence et de pronostic vital surtout au niveau des soins intensifs et du service de néphrologie.

Il est donc intéressant d'avoir la valeur la plus exactement possible du DFG, en choisissant la formule la plus optimisée mais avant tout, obtenue par la méthode de mesure de créatinine la plus efficiente, c'est-à-dire en terme du coût et du performance analytique, et ceci pour optimiser la prise en charge des patients.

L'influence des deux méthodes sur la classification des patients :

Les résultats obtenus lors du dosage de la créatinine sanguine par les deux méthodes ont montré une différence de classification des patients ayant des valeurs normales et pathologiques, et ceci pour toute la population en générale et pour chacune des catégories : femmes et enfants à l'exception de la catégorie des hommes qui montre une égalité. A noter que cette différence n'est pas significative ($P > 0.05$ dans les quatre cas).

La clairance et le DFGe ont été estimés en utilisant les formules (CG,MDRD,CKD-EPI) pour les patients adultes, on remarque que la différence de classification se trouve à tous les stades sauf les stades G 3b (CG), G5 (MDRD), G4 et G5 (CKD-EPI) sachant que cette différence est significative ($P < 0.05$).

Pour la formule de BIS I, la différence se trouve aux deux premiers stades et pour la formule de Schwartz les deux stades sont différents, à prendre en considération le nombre réduit des patients pour ces deux formules.

Relation entre la clairance/ DFGe et la créatinine sanguine :

Les graphiques tracés pour les deux méthodes de dosage dans chacune des formules montrent la relation non linéaire (hyperbole inverse) conformément aux études élaborées qui montrent que la CLCr estimée et le DFGe sont une fonction de l'inverse du taux de la créatinine [1] [74], cette relation est visible dans les graphiques de toutes les formules utilisée.

La corrélation entre le DFGe, l'âge et l'IMC :

Le coefficient de corrélation linéaire r donne une mesure de l'intensité et du sens de la relation linéaire, plus ce coefficient est proche de -1 ou +1, plus l'association entre les deux variables est forte, jusqu'à être parfaite.

Le DFGe choisi pour l'étude de la corrélation est celui du CKD-EPI pour les adultes et celui du Schwartz pour les enfants

Les variables ne suivent pas la loi normale donc la corrélation utilisée est celle de Spearman.

DISCUSSION

- La liaison entre l'âge et le DFG estimé par chacune des deux méthodes de dosage est forte mais elle est négative ce qui signifie que le DFGe diminue significativement en avançant dans l'âge ($P < 0.05$).
- Cette liaison est très faible pour les enfants et n'est pas significative ($P > 0.05$).
- La liaison entre l'IMC et le DFG estimé par les deux méthodes de dosage est négative mais elle est faiblement significative, ce qui signifie que l'obésité fait diminuer le DFGe mais de façon faible.
- Cette corrélation n'est pas significative pour la catégorie des enfants

L'âge et l'obésité sont donc des facteurs de risque de l'insuffisance rénale chez les adultes.

Evaluation des performances analytiques :

Selon les recommandations de la SFBC pour la vérification des performances analytiques des méthodes quantitatives le CV calculé pour la fidélité est évalué (en tenant compte de l'intervalle de confiance) par rapport au CV limite annoncé dans la notice d'utilisation du dispositif produit par le fournisseur et également comparé aux CV limites acceptables annoncées par les différentes recommandations, les biais de la justesse ont été traités par le même principe.

Commencant par la fidélité, l'évaluation est réalisée pour la répétabilité et la reproductibilité intra-laboratoire:

Concernant la répétabilité: les CVs sont:

Au niveau normal : 1,47% pour la méthode de Jaffé modifiée et 1,64% pour la méthode enzymatique (inférieurs à 4,5% (*SFBC*))

Au niveau pathologique: 1,38% pour la méthode de Jaffé modifiée et 1,53% pour la méthode enzymatique (inférieur à 2,6% (*SFBC*))

Dans le cadre de notre étude, nos résultats sont supérieurs aux valeurs annoncées dans la fiche technique *COBAS INTEGRA® 400 plus* mais sont jugés conformes selon les recommandations de la SFBC.

- On remarque que pour la répétabilité, la méthode de Jaffé modifiée présente une moindre variation par rapport à la méthode enzymatique mais sans que cela soit significatif ($P > 0.05$)

Concernant la reproductibilité intra-laboratoire:

Les CVs sont tous inférieurs à 2,6% (*SFBC*)

Au niveau normal : 5,53% pour la méthode de Jaffé modifiée et 2,32% pour la méthode enzymatique

Au niveau pathologique: 5% pour la méthode de Jaffé modifiée et 2,61% pour la méthode enzymatique

Dans le cadre de notre étude, nos résultats sont supérieurs aux valeurs annoncées dans la fiche technique *Cobas integra 400 plus* mais sont jugées conformes selon les recommandations de la SFBC.

DISCUSSION

- On remarque que pour la reproductibilité, la méthode enzymatique présente significativement une moindre variation et donc une meilleure reproductibilité que la méthode de Jaffé modifiée ($P < 0.05$)

Pour la justesse, nos études ont montré que :

Pour la méthode Jaffé modifiée:

Cobas integra 400 plus présente une justesse de 93,05% et 95,78% avec un biais de -6,95% et -4,22% pour les valeurs normales et les valeurs pathologiques respectivement.

Pour la méthode enzymatique:

Il présente une justesse de 98,19% et 99,65% avec un biais de 1,81% et 0,35% pour les valeurs normales et les valeurs pathologiques respectivement.

Les limites acceptables selon les recommandations de la **SFBC** sont 7,8% et 7,6% pour le niveau moyen et le niveau élevé respectivement, nos résultats donc sont jugés conformes et les deux méthodes sont par la suite justes.

Il est clair que la méthode enzymatique est plus juste que la méthode de Jaffé modifiée et ceci dans le cadre de notre étude ($P < 0.05$)

On peut expliquer cela par la grande spécificité de la méthode enzymatique.

Les paramètres restants ont été rapportés bibliographiquement:

Pour les limites de linéarité: on a extrait les données à partir des essais annoncées dans les fiches techniques du COBAS INTEGRA® 400 plus pour les deux méthodes

La limite inférieure de la méthode de Jaffé modifiée est de 2,0 mg/L contre 0,57 mg/L pour la méthode enzymatique et la limite supérieure est de 147 mg/L contre 305 mg/L pour les deux méthodes respectivement.

On peut remarquer ainsi la largeur de la linéarité (et donc de l'intervalle de mesure) de la méthode enzymatique, ce qui la rend la méthode de choix pour le dosage des valeurs trop petites (la population pédiatrique) ou trop grandes.

Pour l'évaluation de l'exactitude et de la contamination inter-échantillons: aucune données bibliographique a été trouvée sur ces essais sur **COBAS INTEGRA 400 plus** pour les deux méthodes

Pour l'évaluation de l'interférence avec la bilirubine on remarque une interférence moindre de la méthode enzymatique (indice I de 20 contre un indice de 5 pour la méthode de Jaffé modifiée)

Aussi pour la lipémie (indice L de 1000 contre 250 pour la méthode de Jaffé modifiée)

Cependant, pour l'hémolyse on remarque la même influence de son interférence (même indice H de 800)

Evaluation de la concordance entre les deux méthodes étudiées :

➤ Pour la créatinine sanguine :

Graphique de régression

On remarque avec la régression de **Passing & Bablok** ayant l'équation de régression suivante: $y = 0,350356 + 0,940653 x$ que :

- L'IC à 95% de l'intersection (a) n'inclut pas la valeur 0 (0,1770 à 0,5619) et donc il existe une différence significative entre a (0,35) et la valeur 0

L'erreur systématique (la différence constante) par conséquent existe.

- L'IC à 95% de la pente (b) n'inclut pas la valeur 1 (0,9152 à 0,9621) et donc il existe une différence significative entre b (0,94) et la valeur 1

L'erreur proportionnelle par conséquent existe.

La relation entre les deux méthodes est stable sur le domaine d'étude, cela est vérifié par le test CUSUM, et donc on peut conclure sur la concordance.

Les deux méthodes sont donc statistiquement différentes et donc on ne peut pas assumer qu' $y=x$.

Les deux méthodes utilisées ne sont pas interchangeables.

● Graphique de dispersion de Bland-Altman :

Les valeurs de différence ne suivent pas la loi normale, ceci est probablement dû à la taille d'échantillon et donc on pourra poursuivre notre étude, cela est impliqué aussi sur les formules CG, MDRD et CKD-EPI.

On remarque que plus que 95% des points (96,3%) sont inclus dans l'intervalle des limites d'agrément (± 1.96 ET) ce qui indique une bonne concordance.

La moyenne des différences est égale à -0,04412 (n'est pas nulle) ce qui signifie que la méthode de Jaffé modifiée surestime de 0,04 mg/l la méthode enzymatique de façon non significative ($P > 0.05$).

Ce résultat diffère de ce qui a été trouvé dans les travaux de *Robert L. Schmidt et al* [74] où la moyenne des différences était nulle.

DISCUSSION

➤ Pour la clairance de la créatinine (CLCr) et les DFGe :

La CLCr et Les DFG estimés à partir de chacune des deux méthodes de dosage de la créatinine ont été comparé ensemble et ceci pour chaque formule :

Pour la formule de CG :

Graphique de dispersion de Bland-Altman :

On remarque que plus de 95% (97.45%) des points sont inclus dans l'intervalle des limites d'accord ce qui indique une bonne concordance.

La moyenne des différences est égale à 1,2431 au lieu d'être nulle ce qui signifie que la formule calculée par la méthode de Jaffé modifiée sous-estime de 1.24 ml/min/1,73 m² celle calculée par la méthode enzymatique, de façon significative (P<0.05).

Graphique de régression :

On remarque avec la régression de **Passing-Bablok** ayant l'équation de régression suivante:

$$y=1,758040 + 0,995398 x \text{ que :}$$

- L'IC à 95% de l'intersection (a) inclut la valeur 0 (-0,2099 à 4,0931) et donc pas de différence significative entre a (1.75) et la valeur 0.

L'erreur systématique (la différence constante) par conséquent n'existe pas.

- L'IC à 95% de la pente (b) inclut la valeur 1 (0,9712 à 1,0200) et donc il n'existe pas de différence significative entre b (0,995) et la valeur 1.

L'erreur proportionnelle par conséquent n'existe pas.

La relation entre les deux méthodes est stable sur le domaine d'étude, cela est vérifié par le test CUSUM, et donc on peut conclure sur la concordance.

Les deux formules estimées à partir des deux méthodes ne sont donc pas statistiquement différentes et donc on peut assumer qu' $y=x$.

Les deux méthodes utilisées sont interchangeables pour le calcul de la formule CG.

DISCUSSION

Pour la formule MDRD :

Graphique de dispersion de Bland-Altman :

On remarque que plus de 95% (95,9%) des points sont inclus dans l'intervalle des limites d'agrément ce qui indique une bonne concordance.

La moyenne des différences est égale à 1,4131 (n'est pas nulle) ce qui signifie que la méthode de Jaffé modifiée sous-estime de 1,41 ml/min/1,73 m² la méthode enzymatique de façon significative (P<0.05).

Graphique de régression :

On remarque avec la régression de **Passing-Bablok** ayant l'équation de régression suivante:

$$y = 3,358662 + 0,978426 x \text{ que :}$$

- L'IC à 95% de l'intersection (a) inclut la valeur 0 (0,6852 à 6,1441) et donc pas de différence significative entre a (3,36) et la valeur 0

L'erreur systématique (la différence constante) par conséquent n'existe pas.

- L'IC à 95% de la pente (b) inclut la valeur 1 (0,9479 à 1,0105) et donc il n'existe pas d'erreur proportionnelle.

La relation entre les deux méthodes est stable sur notre domaine d'étude, cela est vérifié par le test CUSUM, et donc on peut conclure sur la concordance.

Les deux DFG estimés à partir des deux méthodes ne sont donc pas statistiquement différents et on peut donc assumer qu' $y=x$.

Les deux méthodes utilisées pour l'estimation de la formule MDRD sont interchangeables.

DISCUSSION

Pour la formule CKD-EPI :

Graphique de dispersion de Bland-Altman :

On remarque que plus de 95% (97.45%) des points sont inclus dans l'intervalle des limites d'accord ce qui indique une bonne concordance.

La moyenne des différences est égale à 0,9370 (n'est pas nulle) ce qui signifie que la méthode de Jaffé modifiée sous-estime de 0.94 ml/min/1,73m² la méthode enzymatique de façon significative (P<0.05).

Ce résultat diffère de ce qui a été trouvé dans les travaux de *Robert L. Schmidt1 et al* [74] où la moyenne des différences était nulle.

Graphique de régression

On remarque avec la régression de **Passing-Bablok** ayant l'équation de régression suivante:

$y = 3,706940 + 0,969886 x$ que :

- L'IC à 95% de l'intersection (a) n'inclut pas la valeur 0 (2,0315 à 5,5410) et donc il existe une grande différence significative entre a (3.7) et la valeur 0.

L'erreur systématique (la différence constante) par conséquent existe.

- L'IC à 95% de la pente (b) n'inclut pas la valeur 1 (0,9517 à 0,9872) et donc il existe une erreur proportionnelle.

La relation entre les deux méthodes est stable sur le domaine d'étude, cela est vérifié par le test CUSUM, et donc on peut conclure sur la concordance.

Les deux DFG estimés à partir des deux méthodes sont donc statistiquement différents et on ne peut pas assumer qu'y=x.

Les deux méthodes utilisées pour l'estimation de la formule CKD-EPI ne sont pas interchangeables.

DISCUSSION

Pour la formule de BIS I :

Graphique de dispersion de Bland-Altman :

Après vérification de la normalité des différences par le test de Kolmogorov, on remarque que plus de 95% des points (99,6%) sont inclus dans l'intervalle des limites d'agrément (± 1.96 ET) ce qui indique une bonne concordance.

La moyenne des différences est égale à 1,4974 au lieu d'être nulle ce qui signifie que la formule calculée par la méthode enzymatique surestime de 1.5 ml/min/1,73 m² celle calculée par la méthode de Jaffé modifiée, mais de façon non significative ($P > 0.05$).

Graphique de régression :

On remarque avec la régression de **Passing-Bablok** ayant l'équation de régression suivante:

$y = 1,200057 + 1,000128 x$ que :

- L'IC à 95% de l'intersection (a) inclut la valeur 0 (-3,8431 à 7,0497) et donc pas de différence significative entre a (1.20) et la valeur 0.

L'erreur systématique (la différence constante) par conséquent n'existe pas.

- La valeur de la pente (b) inclut la valeur 1 (0,9040 à 1,0951) et donc il n'existe pas d'erreur proportionnelle.

La relation entre les deux méthodes est stable sur le domaine d'étude, cela est vérifié par le test CUSUM, et donc on peut conclure sur la concordance.

Les deux DFG estimés à partir des deux méthodes sont donc statistiquement très proches et on peut assumer qu' $y=x$.

Les deux méthodes utilisées pour l'estimation de la formule BIS I sont interchangeables dans le cadre de notre étude puisque le nombre d'échantillons étudiés (27) est inférieur au nombre minimum de comparaison (40).

DISCUSSION

Pour la formule de Schwartz :

Graphique de dispersion de Bland-Altman :

Après vérification de la normalité des différences par le test de Kolmogorov, on remarque que plus de 95% des points (100% des points) sont inclus dans l'intervalle des limites d'agrément ce qui indique une bonne concordance.

La moyenne des différences est égale à -41,8619 au lieu d'être nulle ce qui signifie que la formule calculée par la méthode enzymatique sous-estime de 41,9 ml/min calculée par la méthode de Jaffé modifiée, de façon significative ($P < 0.05$).

Les deux méthodes présentent donc une grande différence qui influence sur le plan clinique.

Graphique de régression :

On remarque avec la régression de **Passing-Bablok** ayant l'équation de régression suivante:

$y = 105,4 + 0,3 x$ que :

- L'IC à 95% de l'intersection (a) n'inclut pas la valeur 0 (47,3515 à 139,2125) et donc il existe une grande différence significative entre a (105,4) et la valeur 0.

L'erreur systématique (la différence constante) par conséquent existe.

- L'IC à 95% de la pente (b) n'inclut pas la valeur 1 (0,07849 à 0,5973) et donc il existe une grande différence significative entre b (0,3) et la valeur 1.

L'erreur proportionnelle existe par conséquent.

La relation entre les deux méthodes est stable sur le domaine d'étude, cela est vérifié par le test CUSUM, et donc on peut conclure sur la concordance.

Les deux DFG estimés à partir des deux méthodes sont donc statistiquement différents et on ne peut pas assumer qu' $y=x$.

Les deux méthodes utilisées pour l'estimation de la formule Schwartz ne sont pas interchangeables dans le cadre de notre étude puisque le nombre d'échantillons étudiés (20) est inférieur au nombre minimum de comparaison (40)

DISCUSSION

L'influence de l'hyperbilirubinémie sur la concordance des deux méthodes :

Les valeurs de la créatinine dosées par les deux méthodes ont été comparées en fonction des valeurs de la bilirubine totale obtenues. On remarque que plus la valeur de la bilirubine augmente plus l'écart entre la méthode de jaffé modifiée et la méthode enzymatique augmente significativement ($P < 0.05$) (c'est-à-dire que plus les valeurs de la créatinine dosées par la méthode de Jaffé modifiée sont minorées), ce qui signifie que la méthode enzymatique présente une moindre influence par la bilirubine et donc une meilleure spécificité analytique en présence d'hyperbilirubinémie, cela correspond avec les études faites sur ce contexte y compris l'étude de Laura J Owen & Brian G Keevil [80].

Comparaison technique :

Les deux méthodes sont mesurées par l'absorbance mais le mode de calcul et la longueur d'onde d'absorption se diffèrent (la méthode de jaffé modifiée mesure à 512/583 nm en cinétique alors que la méthode enzymatique mesure à 552/659 nm en point final), la durée de mesure est de 9 min pour la méthode de Jaffé modifiée et est de 11 min pour la méthode enzymatique.

Concernant les paramètres de pipetage, on remarque que la méthode enzymatique consomme plus de réactifs (R1 : 77 μ l, SR : 38 μ l) et moins de diluant (5 μ l) et d'échantillon (2 μ l) par rapport à la méthode de jaffé modifiée qui mesure avec un volume de réactif de 13 μ l de R1 et 17 μ l de SR alors qu'elle consomme 10 μ l d'échantillon et 107 μ l de diluant ce qui inverse la balance du volume total consommé vers la méthode de jaffé modifiée.

Comparaison économique :

Si on compare les deux méthodes sur le plan économique on trouve que pour la méthode de Jaffé modifiée le nombre de tests par cassette est de 700 avec un prix de 12.15 Da par test alors que pour la méthode enzymatique le nombre de tests par cassette est de 250 avec un prix de 72.88 Da par test,

La méthode de jaffé modifiée est donc plus économique.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les deux méthodes : la méthode de Jaffé modifiée et la méthode enzymatique sont concordantes pour la mesure de la créatinine mais avec une différence systématique et proportionnelle.

Elles sont concordantes et interchangeables pour le calcul des formules CG, MDRD et BIS I, mais ne sont pas interchangeables dans le cas des formules CKD-EPI et Schwartz

La méthode enzymatique est plus performante que la méthode de Jaffé modifiée en termes de reproductibilité, justesse, largeur de l'intervalle de mesure, et interférences de la bilirubine et des lipides.

Elle est plus adaptée pour le calcul du DFG_e selon la formule Schwartz que la méthode de Jaffé modifiée et est privilégiée dans les cas d'hyperbilirubinémie.

La méthode de Jaffé modifiée reste plus économique en termes de consommation des réactifs et du coût, donc plus adaptée aux cas des sujets ne présentant pas de problèmes rénaux.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] F. BEN KHALIL, “Méthodes d’exploration biologique de la fonction glomérulaire rénale: Etat de l’art,” MOHAMMED V -SOUISSI-, 2013.
- [2] M. HAKIKI, H. OUICI, and B. Dr M.CHERIF, “Estimation du débit de filtration glomérulaire par les marqueurs sériques Créatinine versus Cystatine C chez les transplantés rénaux et les insuffisants rénaux en dialyse péritonéale au niveau du service de néphrologie au CHU de Tlemcen.,” ABOU BEKR BELKAÏD, 2018.
- [3] E. SACCHETTO, “Intérêt de la NGAL comme marqueur précoce de l’insuffisance rénale aiguë dans le remplacement valvulaire aortique sous circulation extracorporelle chez les sujets âgés,” UNIVERSITÉ DE NANTES, 2014.
- [4] D. Verhelst, “Characteristics and epidemiology of chronic kidney disease,” *Soins*, vol. 63, no. 826, pp. 14–16, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.soins.2018.04.004.
- [5] “Diagnostic de l’insuffisance rénale: Amélioration de la mesure de la créatinine par le développement de méthodes et de matériaux de référence,” France, 2015.
- [6] A. Chinar, “Épidémiologie de l’insuffisance rénale chronique terminale à la daïra de Batna, Algérie,” *Néphrologie & Thérapeutique*, vol. 11, no. 5, p. 435, 2015, doi: 10.1016/j.nephro.2015.07.212.
- [7] H. MOUZAOUÏ and O. OUSSADI, “Exploration de la fonction rénale au CHU de Tizi Ouzou Débit de Filtration Glomérulaire,” Mouloud MAAMRI, 2016.
- [8] K. Kadio Akou Morel, “Profil de la cystatine C chez les sujets noirs africains insuffisants rénaux chroniques adultes vivants en Côte d’Ivoire,” 2018.
- [9] P. Delanaye *et al.*, “La créatinine: D’hier à aujourd’hui,” *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, vol. 68, no. 5, pp. 531–543, 2010, doi: 10.1684/abc.2010.0479.
- [10] E. Cavalier, “La détermination du débit de filtration glomérulaire.”
- [11] V. DELATOUR *et al.*, “Développement d’une méthode de référence pour le dosage de la créatinine pour améliorer le diagnostic et le suivi de l’insuffisance rénale,” *Rev. française métrologie*, no. 26, pp. 21–31, 2011, doi: 10.1051/rfm/2011008.
- [12] O. ALLAIRE, “Dosage de la créatininémie , évaluation du débit de filtration glomérulaire et rapport albuminurie / créatininurie dans le diagnostic de l’insuffisance rénale chronique,” France, 2011.
- [13] L. Piéroni *et al.*, “A multicentric evaluation of IDMS-traceable creatinine enzymatic assays,” *Clin. Chim. Acta*, vol. 412, no. 23–24, pp. 2070–2075, Nov. 2011, doi: 10.1016/j.cca.2011.07.012.
- [14] R. Vaishya, S. Arora, B. Singh, V. Mallika, and S. Arora, “Modification of Jaffe’s kinetic method decreases bilirubin interference: A preliminary report,” *Indian J. Clin. Biochem.*, vol. 25, no. 1, pp. 64–66, Jan. 2010, doi: 10.1007/s12291-010-0013-2.
- [15] “Creatine | Origin and meaning of creatine by Online Etymology Dictionary.” <https://www.etymonline.com/word/creatine> (accessed Apr. 05, 2021).
- [16] “Creatine: A Short History - Physical Culture Study.” <https://physicalculturestudy.com/2015/02/26/creatine-a-short-history/> (accessed Apr. 07, 2021).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [17] “2-Imino-1-methylimidazolidin-4-one | C₄H₇N₃O - PubChem.”
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/588#section=Spectral-Information>
(accessed Apr. 05, 2021).
- [18] “creatinine (CHEBI:16737).”
<https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:16737> (accessed Apr. 05, 2021).
- [19] “Human Metabolome Database: Showing metabocard for Creatinine (HMDB0000562).” <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000562> (accessed Apr. 06, 2021).
- [20] “CRÉATINE & CRÉATININE - Encyclopædia Universalis.”
<https://www.universalis.fr/encyclopedie/creatine-et-creatinine/> (accessed Apr. 07, 2021).
- [21] “Creatine | DrugBank Online.” <https://go.drugbank.com/drugs/DB00148> (accessed Apr. 07, 2021).
- [22] “Métabolisme des acides aminés lemaire.” <https://m.20-bal.com/pravo/23397/index.html> (accessed Apr. 07, 2021).
- [23] “Creatine | C₄H₉N₃O₂ - PubChem.”
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Creatine> (accessed Apr. 07, 2021).
- [24] “Hazardous Substances Data Bank (HSDB) : 7336 - PubChem.”
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/7336#section=Body-Burden> (accessed Apr. 07, 2021).
- [25] “Publication pédagogique du CUEN.”
- [26] N. Gillain-martin, “Le dosage de la créatinine et l’ estimation du débit de filtration glomérulaire,” in *Symposium ABTL/BVLT*, 2016, no. May, p. 44, doi: 10.13140/RG.2.1.2406.5523.
- [27] “Anatomy of the Urinary System | Johns Hopkins Medicine,” *John Hopkins Medecine*, 2018. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/wellness-and-prevention/anatomy-of-the-urinary-system> (accessed Feb. 16, 2021).
- [28] L. M. Biga *et al.*, “25.1 Internal and External Anatomy of the Kidney,” *Oregon State University*, 2020. <https://open.oregonstate.edu/aandp/chapter/25-1-internal-and-external-anatomy-of-the-kidney/> (accessed Feb. 22, 2021).
- [29] G. A. G. Mitchell and J. S. Robson, “Renal system - Renal vessels and nerves,” *Britannica*, 2020. <https://urlz.fr/f3dE> (accessed Feb. 16, 2021).
- [30] J. L. PALLOT, “Physiologie rénale,” MONTREUIL, 2018.
- [31] V. De La Fuente, F. Stucker, and P. Saudan, “Épidémiologie de l’insuffisance rénale aiguë acquise dans la communauté,” *Rev. Med. Suisse*, vol. 10, no. 419, pp. 470–473, 2014.
- [32] “Chapitre 21 - Insuffisance rénale aiguë – Anurie | Urofrance.”
<https://www.urofrance.org/congres-et-formations/formation-initiale/referentiel-du-college/insuffisance-renale-aigue-anurie.html> (accessed Apr. 09, 2021).
- [33] B. MOULIN, M.-N. PERALDI, J. F. Subra, and J. F. Augusto, *Néphrologie* 7. 2016.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [34] “Insuffisance rénale chronique - symptômes, causes, traitements et prévention - VIDAL.” <https://www.vidal.fr/maladies/reins-voies-urinaires/insuffisance-renale-chronique.html> (accessed Apr. 09, 2021).
- [35] N. POUTIGNAT, C. GUISLAIN, I. LE PUIL, and M. RUBINSZTEJN, “Maladie Rénale Chronique de l’adulte GUIDE DU PARCOURS DE SOINS,” France, 2011.
- [36] “Insuffisance rénale chronique - La maladie | Recommandations | VIDAL Campus.” <https://cutt.ly/1mzl95A> (accessed Apr. 09, 2021).
- [37] “LES MALADIES RÉNALES.” <https://urlz.fr/f3dt>.
- [38] “ionogramme - LAROUSSE.” <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/ionogramme/13972> (accessed Apr. 10, 2021).
- [39] C. Cormier, “Physiopathologie de l’hyperparathyroïdie secondaire de l’insuffisance rénale chronique.,” *Réalités en rhumatologie*, vol. 48, pp. 11–13, 2012.
- [40] “DIURÈSE : Définition de DIURÈSE.” <https://www.cnrtl.fr/definition/academie9/diurèse> (accessed Apr. 11, 2021).
- [41] A. Md Ralib, J. W. Pickering, G. M. Shaw, and Z. H. Endre, “The urine output definition of acute kidney injury is too liberal,” *Crit. Care*, vol. 17, no. 3, p. R112, Jun. 2013, doi: 10.1186/cc12784.
- [42] J.-M. Chemouny and Daugas, “Protéinurie, microalbuminurie,” *Elsevier Masson SAS*, pp. 1–7, 2017.
- [43] O. Treacy, N. N. Brown, and G. Dimeski, “Biochemical evaluation of kidney disease,” *Translational Andrology and Urology*, vol. 8, no. Suppl 2. AME Publishing Company, pp. S214–S223, 2019, doi: 10.21037/tau.2018.10.02.
- [44] “La fonction rénale et l’estimation du débit de filtration glomérulaire.”
- [45] J. P. Cristol, “Créatinine Cystatine : Choix méthodologique et estimation du débit de Filtration Glomérulaire en,” in *39° Colloque National des biologistes des hôpitaux*, 2010, p. 61.
- [46] S. T. C. COLAS, “Evaluation de la fonction rénale chez la personne âgée selon les formules CG, MDRD, CKD-EPI et son impact sur les prescriptions médicamenteuses,” Université Paris Diderot-Paris7, 2015.
- [47] N. Bertier, “Application de l’équation Full Age Spectrum aux patients du GHICL,” Université de LILLE, 2015.
- [48] A. S. Levey *et al.*, “Authors Current Mailing address: 8. Paul Eggers Kidney & Urology Branch, NIDDK, National Institutes of Health, 6707 Democracy Blvd,” 2081.
- [49] L. Hoste, K. Deiteren, H. Pottel, N. Callewaert, and F. Martens, “Routine serum creatinine measurements: How well do we perform?,” *BMC Nephrol.*, vol. 16, no. 1, pp. 1–9, 2015, doi: 10.1186/s12882-015-0012-x.
- [50] O. Sorare and M. Novembre, “Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) Maladie Rénale Chronique (MRC) de l ’ Enfant Centres de Références des Maladies Rénales rares Sous l ’ égide de la filière ORKiD SORARE et MARHEA Sommaire,” 2018.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [51] G. M. Caronni, H. Komaromi, A. Guillermin, M. Schneider, and Z. Fumeaux, “Insuffisance rénale aiguë en 2017 Prise en charge dans un hôpital non universitaire: Un exemple de collaboration interprofessionnelle,” *Rev. Med. Suisse*, vol. 13, no. 573, pp. 1502–1508, 2017.
- [52] “Les différents principes analytiques utilisés en biochimie.” .
- [53] “OBJECTIFS.” Accessed: May 24, 2021. [Online]. Available: www.biochmed.blogspot.com.
- [54] “John Libbey Eurotext - Annales de Biologie Clinique - Comparaison de la méthode de Jaffé modifiée et d’une méthode enzymatique de dosage de la créatinine sérique : conséquences pratiques d’un changement de méthode au sein d’un laboratoire de biologie clin.” <https://cutt.ly/smzx18B> (accessed May 22, 2021).
- [55] BIOLABO, “Réactif de dosage de créatinine-méthode en cinétique,” Maizy, France SUPPORT, 2020.
- [56] Diasys/diagnostic system, “Créatinine FS,” 2020.
- [57] Cobas/Substrates, “CREJ2,” 2019.
- [58] S. Joannon, B. Le Fèvre, and P. Christian, “Dilution isotopique et spectrométrie de masse à source plasma: Une combinaison optimale pour l’analyse de haute précision des éléments en traces,” *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.*, vol. 45, pp. 13–24, Accessed: May 29, 2021. [Online]. Available: <https://cutt.ly/Amzc8EN>.
- [59] HAS, “Dosage de la créatininémie, évaluation du débit de filtration glomérulaire et rapport albuminurie/créatininurie dans le diagnostic de l’insuffisance rénale chronique,” 2011.
- [60] P. Marquis, “La comparaison des méthodes analytiques en biologie clinique.”
- [61] M. GERMA, “La validation de méthodes analytiques,” Feb. 2015, Accessed: May 28, 2021. [Online]. Available: <https://cutt.ly/hmzn1Xo>.
- [62] A. Vassault, A. Hulin, E. Chapuzet, and J. Arnaud, “Vérification/validation des performances d’une méthode d’analyse,” vol. 68, pp. 247–294, 2010.
- [63] Institut national de la recherche agronomique -, “Validation des méthodes d’analyse quantitative par le profil d’exactitude,” 2010.
- [64] M. GERMA, “La validation de méthodes analytiques,” 2015. <https://cutt.ly/2mzQygs> (accessed May 28, 2021).
- [65] COFRAC, “Guide technique d’accréditation pour les laboratoires de biologie médicale (LBM) appartenant à des groupements hospitaliers de territoire (GHT),” 2018. Accessed: Feb. 27, 2021. [Online]. Available: <https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-15>.
- [66] A. Vassault, “Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d’acceptabilité à l’usage de la validation de techniques,” no. October, 2017, [Online]. Available: <https://cutt.ly/OmzQvFl>.
- [67] “Guide de validation des méthodes d’analyses,” 2015. Accessed: Feb. 26, 2021. [Online]. Available: https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES_GuideValidation.pdf.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [68] I. Pinguet, “Validation analytique : application de la procédure SFSTP 2003-2006 au domaine de la phytothérapie.,” p. 93, 2015.
- [69] COFRAC, “Guide technique d’accréditation de vérification (portée A)/validation (portée B) des méthodes en biologie médicale,” vol. SH GTA 04, pp. 1–191, 2015, [Online]. Available: <https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-04>.
- [70] “Régression de Passing et Bablok | Logiciel statistique pour Excel.” <https://www.xlstat.com/fr/solutions/fonctionnalites/regression-passing-bablok> (accessed May 29, 2021).
- [71] “Licence Creative Commons-Guide pratique de validation de méthodes de mesure-Version v12.8.” Accessed: May 29, 2021. [Online]. Available: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02103716>.
- [72] “Faire et analyser un graphique de Bland-Altman pour évaluer la concordance entre deux instruments ou plus - PDF Free Download.” <https://docplayer.fr/17169232-Faire-et-analyser-un-graphique-de-bland-altman-pour-evaluer-la-concordance-entre-deux-instruments-ou-plus.html> (accessed May 29, 2021).
- [73] R. L. Schmidt, M. A. Kordy, J. R. Genzen, J. A. Straseski, D. N. Greene, and C. M. Lehman, “A mathematical procedure to estimate the impact of a change in method on discordance or misclassification at a decision limit in laboratory method comparison studies,” *Clin. Chim. Acta*, vol. 440, pp. 23–30, 2015, doi: 10.1016/j.cca.2014.10.043.
- [74] R. L. Schmidt, J. A. Straseski, K. L. Raphael, A. H. Adams, and C. M. Lehman, “A risk assessment of the Jaffe vs enzymatic method for creatinine measurement in an outpatient population,” *PLoS One*, vol. 10, no. 11, pp. 1–21, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0143205.
- [75] ROCHE, “Analyseur COBAS INTEGRA® 400 plus,” 2016. <https://diagnostics.roche.com/fr/fr/products/instruments/cobas-integra-400-plus.html> (accessed Jun. 03, 2021).
- [76] Roche, “Analyse de routine et spéciale sans compromis,” 2016. .
- [77] A. Johana, “Comparaison de méthodes pour le dosage sérique du sodium, potassium, chlore, glucose et lactate sur le Cobas Integra 400 plus et le Gazomètre ABL700,” ICHV de Monthey, Mr Airiau François, 2008.
- [78] “OMS | Dix faits sur l’obésité.” <https://www.who.int/features/factfiles/obesity/facts/fr/> (accessed Jul. 02, 2021).
- [79] “WHO Anthro Survey Analyser and other tools.” <https://www.who.int/toolkits/child-growth-standards/software> (accessed Jul. 02, 2021).
- [80] L. J. Owen and B. G. Keevil, “Does bilirubin cause interference in Roche creatinine methods? [13],” *Clinical Chemistry*, vol. 53, no. 2. Oxford Academic, pp. 370–371, Feb. 01, 2007, doi: 10.1373/clinchem.2006.075846.

ANNEXES

ANNEXES

Tableau des annexes :

Annexe 1	Données brutes
Annexe 2	Valeurs de référence annoncées par le fournisseur
Annexe 3	Prospectus CREJ 2
Annexe 4	Prospectus CREP 2
Annexe	Photo divers

ANNEXES

ANNEXE 1 : Tableau des données brutes :

➤ Données des 216 patients :

N°	S E X E	Age	Taille	Poids	jaffée modifiée mg/L	enzymatique mg/L
1	H	75	1,77	60	8,41	9,07
2	F	36	1,75	85	3,73	4,28
3	H	41	1,8	86	7,75	8,01
4	H	59	1,7	95	8,06	7,73
5	H	68	1,77	62	9,07	9,37
6	H	62	1,7	80	7,43	7,39
7	H	68	1,75	70	6,25	6,67
8	H	54	1,75	80	8,04	8,2
9	F	19	1,65	57	4,87	5,15
10	F	37	1,65	59	6,47	6,85
11	H	58	1,75	94	12,9	12,43
12	F	70	1,6	90	7,36	7,76
13	H	85	1,85	80	11,43	10,16
14	H	21	1,5	65	6,98	7,67
15	E	3	0,5	10	<2,03	1,65
16	F	58	1,55	50	20,07	19,19
17	F	76	1,6	75	7,02	6,1
18	H	76	1,65	60	8,64	8,47
19	H	47	1,7	90	8,91	8,84
20	H	26	1,81	70	6,64	6,84
21	F	69	1,57	94	8,23	7,7
22	F	40	1,67	88	6,58	6,35
23	F	76	1,58	88	9,63	9,33
24	F	21	1,63	70	4,68	4,48
25	F	77	1,65	69	8,62	8,29
26	F	22	1,65	64	9,28	9,09
27	E	8	1,1	25	4,6	4,59
28	H	33	1,65	64	11,33	11,33
29	F	57	1,54	70	6,04	5,81
30	F	23	1,65	53	4,3	4,69
31	H	76	1,7	75	9,74	8,79

32	F	33	1,65	65	5,81	5,88
33	F	47	1,7	70	7,43	7,35
34	F	19	1,64	55	5,81	5,75
35	H	61	1,8	98	6,29	5,96
36	F	59	1,7	65	6,49	6,4
37	H	83	1,8	80	16,55	16,53
38	F	44	1,65	75	6,11	5,94
39	H	71	1,8	75	12,47	12,27
40	H	74	1,6	59	7,44	7,29
41	H	64	1,75	75	9,51	8,71
42	H	67	1,76	59	7,09	6,71
43	H	51	1,73	95	9,59	9,31
44	H	36	1,85	70	6,06	5,8
45	H	83	1,78	90	11,69	11,47
46	F	25	1,58	55	5,92	5,58
47	H	61	1,53	63	10,69	11,12
48	H	69	1,67	80	11,91	11,33
49	H	40	1,78	70	8,02	7,54
50	F	53	1,61	74	7,33	6,98
51	F	35	1,65	110	9,13	8,67
52	F	25	1,65	50	6,35	6,23
53	F	72	1,65	68	8,66	7,9
54	E	9	1,05	30	3,97	4,1
55	F	79	1,5	56	5,92	6,21
56	F	25	1,7	71	7,18	7,12
57	F	24	1,62	65	6,2	6,24
58	F	82	1,6	82	11,96	11,38
59	H	39	1,76	85	9,33	9,01
60	F	63	1,65	80	7,97	7,48
61	H	20	1,74	73	7,29	7,13
62	H	20	1,73	58	8,86	8,94
63	F	80	1,55	50	4,93	5,22
64	H	26	1,75	65	6,79	6,38
65	H	72	1,65	56	9,37	9,13

ANNEXES

66	F	31	1,74	87	5,22	5,12
67	F	56	1,68	62	4,42	3,66
68	F	70	1,6	68	9,55	9,61
69	F	27	1,4	64	4,67	4,81
70	H	70	1,6	56	7,33	7,27
71	F	33	1,7	56	5,26	5,43
72	E	14	1,55	39	5,78	5,19
73	H	69	1,7	68	7,19	7,13
74	F	47	1,75	90	14,25	13,2
75	F	41	1,63	82	4,92	5,21
76	F	36	1,74	98	6,83	7,36
77	H	69	1,68	90	9,31	9,28
78	H	58	1,68	56	18,53	17,63
79	F	23	1,75	86	4,19	3,81
80	E	6	1,02	15	2,68	3,04
81	F	42	1,6	46	6,67	5,97
82	F	33	1,61	60	4,62	4,54
83	F	76	1,55	85	6,2	5,72
84	F	38	1,75	80	6,04	5,84
85	F	47	1,7	95	7,15	6,82
86	F	47	1,6	120	6,43	6,28
87	H	52	1,66	90	7,95	8,07
88	F	20	1,49	45	4,11	4,02
89	F	34	1,62	54	4,52	4,64
90	F	63	1,63	56	6,37	5,45
91	H	67	1,62	72	13,98	13,24
92	F	34	1,58	72	5,63	5,89
93	H	65	1,75	70	7,37	7,13
94	F	52	1,62	58	6,64	6,7
95	F	38	1,65	67	6,16	6,14
96	F	49	1,68	90	6,91	6,31
97	H	72	1,72	60	6,85	5,85
98	F	26	1,63	60	8,37	7,15
99	H	52	1,65	80	10,13	9,08
100	H	56	1,6	60	6,35	5,73
101	H	73	1,68	62	9,65	9,76
102	F	58	1,6	55	6,31	6,42
103	F	33	1,65	65	6,21	6,28
104	F	55	1,6	60	5,32	5,28

105	H	79	1,7	54	5,29	5,46
106	F	29	1,68	92	6,81	6,66
107	H	55	1,72	80	10,12	9,79
108	F	48	1,7	74	9,32	8,67
109	F	70	1,65	70	11,07	10,36
110	F	22	1,56	40	9,02	8,54
111	H	49	1,71	70	9,13	8,41
112	H	66	1,72	90	7,61	7,14
113	H	65	1,72	102	10,2	9,16
114	F	26	1,65	72	5,71	5,23
115	F	36	1,68	90	5,81	5,25
116	F	54	1,55	80	9,08	8,47
117	F	24	1,58	57	5,37	5,32
118	F	36	1,6	50	3,79	3,9
119	F	55	1,7	95	7,01	6,04
120	F	51	1,6	63	4,9	4,4
121	H	41	1,6	70	7,93	7,52
122	F	64	1,63	75	6,06	5,38
123	F	34	1,7	75	6	5,34
124	F	35	1,63	90	5,65	5,28
125	F	56	1,6	72	4,46	4,25
126	H	46	1,76	96	8,71	8,09
127	H	57	1,74	84	6,8	6,42
128	F	76	1,55	51	8,44	8,66
129	F	54	1,5	69	8,95	8,66
130	F	36	1,6	85	5,73	5,53
131	F	37	1,6	100	6,14	5,99
132	f	39	1,65	75	6,13	5,49
133	F	45	1,6	79	7,58	7,42
134	F	43	1,75	80	5,97	5,82
135	H	81	1,65	70	6,95	6,83
136	H	52	1,65	70	9,24	9,04
137	H	66	1,72	83	10,68	10,39
138	F	34	1,65	86	6,83	5,72
139	H	58	1,78	65	8,66	8,8
140	F	52	1,75	95	5,66	5,99
141	H	72	1,76	75	9,59	10,09
142	H	43	1,78	70	8,74	8,61
143	F	52	1,63	75	13,85	13,93

ANNEXES

144	F	59	1,6	75	6,42	6,98
145	F	24	1,68	90	5,86	6,22
146	H	65	1,76	75	8,21	8,12
147	F	47	1,57	90	7,7	7,66
148	E	10	1,3	54	4,22	4,52
149	F	39	1,66	130	5,37	5,58
150	F	80	1,65	65	7,25	7,8
151	H	66	1,7	70	8,03	8,11
152	F	60	1,65	75	5,27	5,47
153	F	51	1,58	80	7	7,38
154	E	11	1,4	45	2,86	3,18
155	H	29	1,6	85	7,48	8,01
156	F	45	1,56	60	5,65	6,17
157	H	40	1,72	76	10,67	11,38
158	F	69	1,66	75	13,82	13,36
159	F	48	1,81	100	6,37	6,05
160	F	50	1,75	61	8,97	8,79
161	F	40	1,68	65	5,52	5,97
162	F	27	1,65	125	8,57	9,05
163	H	20	1,7	55	7,73	8,19
164	F	46	1,67	83	5,26	5,44
165	F	47	1,55	75	6,38	6,51
166	H	20	1,72	73	8,82	9
167	H	74	1,72	73	94,9	90,12
168	H	25	1,79	88	7,45	7,51
169	F	29	1,7	60	4,62	5,12
170	H	55	1,75	75	8,19	8,38
171	H	67	1,75	85	13,05	12,62
172	H	27	1,71	78	7,44	7,44
173	F	26	1,7	70	5,64	5,99
174	F	39	1,6	65	3,69	3,98
175	H	33	1,8	75	5,27	5,45
176	F	70	1,62	70	5,41	5,69
177	H	64	1,7	90	9,88	9,34
178	F	28	1,69	93	4,17	5,06
179	F	36	1,65	64	5,38	5,38
180	H	60	1,75	73	8,12	7,67
181	H	59	1,65	80	8,71	9,09
182	F	37	1,68	90	6,56	6,01

183	H	31	1,84	86	10,66	10,3
184	H	66	1,61	60	4,48	4,5
185	F	25	1,68	52	6,17	5,98
186	H	50	1,7	85	7,25	7,46
187	H	35	1,83	96	8,64	8,77
188	H	30	1,78	83	7,52	7,67
189	H	44	1,85	103	11,12	11,15
190	E	5	1,1	22	4,24	4,18
191	F	33	1,67	76	6,37	6,86
192	H	40	1,7	70	7,62	7,57
193	H	29	1,75	73	7,45	7,54
194	E	17	1,5	40	5,48	6,28
195	F	64	1,6	110	6,88	6,93
196	H	58	1,7	85	8,25	8
197	F	81	1,5	60	9,44	8,6
198	F	51	1,65	84	48,41	55,05
199	F	23	1,65	100	18,96	22,11
200	F	58	1,57	85	7,22	7,42
201	H	66	1,78	70	6,87	6,98
202	F	87	1,5	60	5,55	5,26
203	H	48	1,7	50	6,11	6,28
204	H	51	1,65	75	7,75	7,61
205	E	11	1,3	35	2,19	3,87
206	E	12	1,35	30	4,08	6,4
207	E	9	1,31	25	2,75	4,35
208	E	5	1,19	30	2,06	4,13
209	E	7	1,03	17	2,98	4,55
210	E	3	0,86	12	<2,03	2,77
211	E	5	0,98	14	<2,03	2,89
212	E	3	0,78	9	<2,03	3,13
213	E	6	1,13	40	<2,03	4,18
214	H	47	1,65	66	34,97	39,02
215	E	17	1,6	52	10,37	6,52
216	E	11	1,4	33,5	8,6	5,51

ANNEXES

➤ Données du dosage des sérums ictériques :

N°	CREJ 2	CREP 2	Bilirubine totale BLT3
1	50,92	56,72	23,2
2	2,82	4,71	24,4
3	8,88	10,38	24,5
4	4,31	5,44	31,9
5	8,65	11,02	149,2
6	3,78	4,78	39,7
7	9,72	11,16	79,1
8	7,36	7,66	36,1
9	2,03	2,83	32
10	4,57	4,97	25,5
11	5,8	4,91	15,9
12	3,29	4,16	36,1
13	9,55	9,48	20
14	2,19	3,32	27
15	3,23	4,89	36,7
16	2,04	4,03	28
17	5,64	5,56	24,2
18	2,92	4,57	19,6
19	7,24	8,13	35,1
20	2,03	3,77	50
21	2,03	3,32	95,2
22	5,37	5,63	25,3
23	3,65	6,61	177,2
24	6,19	6,73	11,9
25	2,63	3,54	23,6
26	4,21	4,67	18,6
27	2,73	3,51	27,2
28	4,83	5,99	67,8
29	6,63	6,82	18,4
30	2,63	3,52	64
31	6,56	8,54	104,3
32	2,73	4,42	24,3
33	5,53	5,64	18,7
34	6,1	6,89	20,6
35	3,84	4,58	16
36	2,03	2,71	24,5
37	8,89	8,59	18
38	4,09	4,78	14,2
39	3,17	4,06	22,3
40	3,04	3,96	51,6
41	8,15	9,67	32,1
42	2,04	4	63

Annexe 3 : Valeurs de référence annoncées par le fournisseur:

Méthode de Jaffé modifiée :

Femme		5-9 mg/L
Homme		7-12 mg/L
Enfant	3- <5 ans	3,1-4,7 mg/L
	5- <7 ans	3,2-5,9 mg/L
	7- <9 ans	4-6 mg/L
	9- <11 ans	3,9-7,3 mg/L
	11- <13 ans	5,3-7,9 mg/L
	13- <15 ans	5,7-8,7 mg/L

Méthode enzymatique :

Femme		5,1-9,5 mg/L
Homme		6,7-11,7 mg/L
Enfant	3- <5 ans	2,6-4,2 mg/L
	5- <7 ans	2,9-4,7 mg/L
	7- <9 ans	3,4-5,3 mg/L
	9- <11 ans	3,3-6,4mg/L
	11- <13 ans	4,4-6,8 mg/L
	13- <15 ans	4,6-7,7 mg/L

Annexe 3 : prospectus CREJ 2

REF ID: A60000000
CREJ2

Creatinine Jaffé Gen.2 - Compensated Method for Serum and Plasma

Order information

REF	CONTENT	Analyzer(s) on which cobas e pack(s) can be used
04610716 190	Creatinine Jaffé Gen.2 (700 tests)	System-ID 07 6028 2 COBAS INTEGRA 400 plus
10759350 190	Calibrator i.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6
10759350 380	Calibrator i.a.s. (12 x 3 mL, for USA)	System-ID 07 3718 6
12148435 122	Prednorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7
12148435 190	Prednorm U plus (10 x 3 mL, for USA)	System-ID 07 7999 7
12148443 122	Predpath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 6000 6
12148443 190	Predpath U plus (10 x 3 mL, for USA)	System-ID 07 6000 6
05117003 190	PredControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 190	PredControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 190	PredControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, for USA)	System-ID 07 7469 3
05117216 190	PredControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 190	PredControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 190	PredControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, for USA)	System-ID 07 7470 7

cobas[®]
Substrates

English

System information

Test CREJ2 (compensated method), test ID 0-445

Intended use

In vitro test for the quantitative determination of creatinine in human serum and plasma on COBAS INTEGRA systems.

Summary^{1,2,3,4}

Chronic kidney disease is a worldwide problem that carries a substantial risk for cardiovascular morbidity and death. Current guidelines define chronic kidney disease as kidney damage or glomerular filtration rate (GFR) less than 60 mL/min per 1.73 m² for three months or more, regardless of cause.

The assay of creatinine in serum or plasma is the most commonly used test to assess renal function. Creatinine is a break-down product of creatine phosphate in muscle, and is usually produced at a fairly constant rate by the body (depending on muscle mass). It is freely filtered by the glomeruli and, under normal conditions, is not re-absorbed by the tubules to any appreciable extent. A small but significant amount is also actively secreted.

Since a rise in blood creatinine is observed only with marked damage of the nephrons, it is not suited to detect early stage kidney disease. A considerably more sensitive test and better estimation of glomerular filtration rate (GFR) is given by the creatinine clearance test based on creatinine's concentration in urine and serum or plasma, and urine flow rate. For this test a precisely timed urine collection (usually 24 hours) and a blood sample are needed. However, since this test is prone to error due to the inconsistent collection of timed urine, mathematical attempts to estimate GFR based only on the creatinine concentration in serum or plasma have been made. Among the various approaches suggested, two have found wide recognition: that of Cockcroft and Gault and that based on the results of the MDRD trial. While the first equation was derived from data obtained with the conventional Jaffé method, a newer version of the second is usable for IDMS-traceable creatinine methods. Both are applicable for adults. In children, the Bedside Schwartz formula should be used.^{5,6,7,8}

In addition to the diagnosis and treatment of renal disease, the monitoring of renal dialysis, creatinine measurements are used for the calculation of the fractional excretion of other urine analytes (e. g., albumin, α-amylase). Numerous methods were described for determining creatinine. Automated assays established in the routine laboratory include the Jaffé alkaline picrate method in various modifications, as well as enzymatic tests.

Test principle^{9,10,11}

This kinetic colorimetric assay is based on the Jaffé method. In alkaline solution, creatinine forms a yellow-red complex with picrate. The rate of dye formation is proportional to the creatinine concentration in the specimen. To correct for non-specific reaction caused by serum/plasma pseudo-creatinine chromogens, including proteins and ketones, the results for serum or plasma are corrected by -18 μmol/L (-0.2 mg/dL).



Reagents - working solutions

R1 Potassium hydroxide: 900 mmol/L, phosphate: 135 mmol/L, pH = 13.5

SR Picric acid: 38 mmol/L, pH 6.5, non reactive buffer

R1 is in position B and SR is in position C.

Precautions and warnings

Pay attention to all precautions and warnings listed in Section 1 / Introduction of this Method Manual.

For USA: Caution: Federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

This kit contains components classified as follows in accordance with the Regulation (EC) No. 1272/2008:



Danger

H314 Causes severe skin burns and eye damage.

EUH 001 Explosive when dry

Prevention:

P290 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

Response:

P301 + P330 IF SWALLOWED: Rinse mouth. Do NOT induce vomiting. + P331

P303 + P361 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.

P304 + P340 IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.

P305 + P351 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. + P338 + P310 Continue rinsing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.

REF ID: A60000000
CREJ2

Creatinine Jaffé Gen.2 - Compensated Method for Serum and Plasma

cobas[®]
Substrates

Disposal:

PS01 Dispose of contents/container to an approved waste disposal plant.

Product safety labeling follows EU GHS guidance.

Contact phone: all countries: +49-621-7500, USA: 1-800-428-2336

Reagent handling

Ready for use

Storage and stability

Shelf life at 15-25 °C

See expiration date on cobas e pack label

On-board in use at 10-15 °C

8 weeks

Specimen collection and preparation¹²

For specimen collection and preparation only use suitable tubes or collection containers.

Only the specimens listed below were tested and found acceptable. Serum: Collect serum using standard sampling tubes.

Plasma: Li-heparin or EDTA plasma

The sample types listed were tested with a selection of sample collection tubes that were commercially available at the time of testing, i.e. not all available tubes of all manufacturers were tested. Sample collection systems from various manufacturers may contain diluting materials which could affect the test results in some cases. When processing samples in primary tubes (sample collection systems), follow the instructions of the tube manufacturer.

Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay.

See the limitations and interferences section for details about possible sample interferences.

Stability in serum/plasma:¹³

7 days at 15-25 °C

7 days at 2-8 °C

3 months at (-15)–(-25) °C

Sample stability claims were established by experimental data by the manufacturer or based on reference literature and only for the temperature/time frames as stated in the method sheet. It is the responsibility of the individual laboratory to use all available references and/or its own studies to determine specific stability criteria for its laboratory.

Materials provided

See "Reagents - working solutions" section for reagents.

Assay

For optimum performance of the assay follow the directions given in this document for the analyzer concerned. Refer to the appropriate operator's manual for analyzer-specific assay instructions.

Application for serum and plasma

Test definition

Measuring mode Absorbance

Abs. calculation mode Kinetic

Reaction direction Increase

Wavelength A/B 512/563 nm

Calc. test/rat 40/0

Reaction mode RI-S-GR

Unit μmol/L

Spotting parameters

		Diluent (H ₂ O)
R1	15 μL	71 μL
Sample	10 μL	20 μL
SR	17 μL	16 μL

Total volume 147 μL

Calibration

Calibrator

Calibrator i.a.s.

Use deionized water as zero calibrator.

Calibration mode

Linear regression

Calibration replicate

Duplicate recommended

Calibration interval

Each cobas e pack and 7 days, and as required following quality control procedures

Calibration interval may be extended based on acceptable verification of calibration by the laboratory.

Traceability: This method has been standardized against IDMS.¹⁴

For the USA, this method has been standardized against a primary reference material (SRM[®] 914 and SRM 967 (IDMS)).

¹⁴ Interim Division Mass Spectrometry

¹⁵ Standard Reference Material

Quality control

Reference range

Prednorm U plus or
PredControl ClinChem Multi 1

Pathological range

Predpath U plus or
PredControl ClinChem Multi 2

Control interval

24 hours recommended

Control sequence

User defined

Control after calibration

Recommended

For quality control, use control materials as listed in the "Order information" section. In addition, other suitable control material can be used.

The control intervals and limits should be adapted to each laboratory's individual requirements. Values obtained should fall within the defined limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the defined limits.

Follow the applicable government regulations and local guidelines for quality control.

Calculation

The COBAS INTEGRA 400 plus analyzer automatically calculates the analyte concentration of each sample. For more details, please refer to Data Analysis in the Online Help.

Conversion factor: μmol/L x 0.0113 = mg/dL

Limitations - interference

Criterion: Recovery in the creatinine decision range for adults (90 μmol/L in serum) within ± 10 % of initial value.

Hemolysis:¹⁶ No significant interference up to an H index of 800 (approximate hemoglobin concentration: 407 μmol/L or 800 mg/dL).

Do not use the COBAS INTEGRA Creatinine Jaffé Gen.2 test when testing for creatinine in hemolyzed samples from neonates, infants or adults with an HbF level of ≥ 60 mg/dL.

Interference:¹⁷ No significant interference up to an I index of 5 for conjugated and unconjugated bilirubin (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 85 μmol/L or 5 mg/dL).

Lipemia (Interlipid):¹⁸ No significant interference up to an L index of 250. There is poor correlation between the L index (corresponds to turbidity) and triglycerides concentration.

Pyrates: No significant interference from pyrates up to a concentration of 0.4 mmol/L (3.5 mg/dL).

Ascorbic acid: No significant interference from ascorbic acid up to a concentration of 4 mmol/L (70 mg/dL).

Drugs: No interference was found at therapeutic concentrations using common drug panels.^{19,20}

Exceptions: Antibiotics containing cephalosporin lead to significant false-positive values.^{21,22} Ceftriaxone causes artificially high creatinine results.

Hydroxocobalamin (Cyanokit) may cause artificially low results.

CREJ2

Creatinine Jaffé Gen.2 - Compensated Method for Serum and Plasma

The presence of ketone bodies can cause artificially high results in serum and plasma.

In very rare cases, gammopathy, in particular type IgM (Waldenström's macroglobulinemia), may cause unreliable results.²¹

Values < 0.2 mg/dL (< 18 µmol/L) or negative results are reported in rare cases in children < 3 years and elderly patients. In such cases use the Creatinine plus test to assay the sample.

Estimation of the Glomerular Filtration Rate (GFR) on the basis of the Schwartz Formula can lead to an overestimation.²¹

For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

ACTION REQUIRED

Special Wash Programming: The use of special wash steps is mandatory when certain test combinations are run together on COBAS INTEGRA analyzers. Refer to the CLEAR Method Sheet for further instructions and for the latest version of the Extra wash cycle list.

Where required, special wash/carry-over evasion programming must be implemented prior to reporting results with this test.

Limits and ranges

Measuring range

18-1300 µmol/L (0.2-14.7 mg/dL)

The measuring range in the instrument settings is defined as 36-1318 µmol/L (0.4-14.9 mg/dL) due to the compensation offset of 18 µmol/L (0.2 mg/dL).

Determine samples having higher concentrations via the re-run function. Dilution of samples via the re-run function is a 1:10 dilution. Results from samples diluted using the re-run function are automatically multiplied by a factor of 10.

Lower limits of measurement

Lower detection limit of the test:

18 µmol/L (0.2 mg/dL)

The lower detection limit represents the lowest measurable analyte level that can be distinguished from zero. It is calculated on the basis of precision studies with human sera (repeatability, n = 10).

Expected values

Adults²²

Females	44-80 µmol/L	(0.50-0.90 mg/dL)
Males	62-106 µmol/L	(0.70-1.20 mg/dL)

Children²³

Neonates (premature)	25-91 µmol/L	(0.28-1.04 mg/dL)
Neonates (full term)	21-75 µmol/L	(0.24-0.85 mg/dL)
2-12 m	15-37 µmol/L	(0.17-0.42 mg/dL)
1-3 y	21-36 µmol/L	(0.24-0.41 mg/dL)
3-5 y	27-42 µmol/L	(0.31-0.47 mg/dL)
5-7 y	28-52 µmol/L	(0.32-0.59 mg/dL)
7-9 y	35-53 µmol/L	(0.40-0.60 mg/dL)
9-11 y	34-65 µmol/L	(0.39-0.73 mg/dL)
11-13 y	46-70 µmol/L	(0.53-0.79 mg/dL)
13-15 y	50-77 µmol/L	(0.57-0.87 mg/dL)

Creatinine clearance for adults^{24,25}

71-151 mL/min

Refer to reference 21 for a prospective study on creatinine clearance in children.

Roche has not evaluated reference ranges in a pediatric population.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference ranges.

Specific performance data

Representative performance data on the COBAS INTEGRA analyzers are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

cobas[®]
Substrates

Precision

Precision was determined using human samples and controls in an internal protocol with repeatability (n = 21) and intermediate precision (3 aliquots per run, 1 run per day, 21 days). The following results were obtained:

	Level 1	Level 2
Mean	65.0 µmol/L (0.746 mg/dL)	330 µmol/L (3.75 mg/dL)
CV repeatability	3.1 %	1.4 %

	Level 1	Level 2
Mean	65.6 µmol/L (0.741 mg/dL)	323 µmol/L (3.65 mg/dL)
CV intermediate precision	2.8 %	1.3 %

Method comparison

Creatinine values for human serum and plasma samples obtained on a COBAS INTEGRA 700 analyzer with the COBAS INTEGRA Creatinine Jaffé Gen.2 (compensated method) reagent (y) were compared with those determined using commercially available reagents for creatinine on a COBAS INTEGRA 700 analyzer (Creatinine plus method) (x). Sample size (n) = 90

COBAS INTEGRA 700 analyzer

Method: enzymatic

Passing/Bablok ²⁶	Linear regression
y = 1.032x - 2.58 µmol/L	y = 1.030x - 1.61 µmol/L
r = 0.947	r = 0.960
SD (ml 95) = 14.4	Sy.x = 6.65

The sample concentrations were between 20.2 and 821 µmol/L (0.228 and 9.29 mg/dL).

References

- Thomas C, Thomas L. *Labor Diagnostik von Erkrankungen der Nieren und abtakteren Harwege*. In: Thomas L, ed. *Labor und Diagnose*, 6th ed. Frankfurt/Main: TH-Books 2005:520-585.
- Lamb E, Newman DJ, Price CP. *Kidney function tests*. In: Buria CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Turk textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*, 4th ed. St.Louis, MO: Elsevier Saunders 2008:707-835.
- <http://www.kidney.org/>
- <http://www.nidk.nih.gov/>
- Lamb EJ, Tomson CRV, Rodrick PJ. *Estimating kidney function in adults using formulae*. *Ann Clin Biochem* 2005;42:321-345.
- Millar WG. *Editorial on Estimating glomerular filtration rate*. *Clin Chem Lab Med* 2009;47(9):1017-1019.
- Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, et al. *New Equations to Estimate GFR in Children with CKD*. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:629-637.
- Schwartz GJ, Work DF. *Measurement and Estimation of GFR in Children and Adolescents*. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1832-1843.
- Staples A, LaBord R, Watkins S, et al. *Validation of the revised Schwartz estimating equation in a predominantly non-CKD population*. *Pediatr Nephrol* 2010; JJ 22:25:2321-2326.
- Jaffé M. *Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins*. *Z Physiol Chem* 1886;10:391-400.
- Fabry DL, Ehringhausen G. *Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the CreatiChem Clin Chem*. 1971;17:696-700.
- Bartsch H, Böhrer M. *Micro-determination of creatinine*. *Clin Chim Acta* 1971;32:81-85.
- Guder WG, Narayanan S, Waiser H, et al. *List of Analytic Preenalytical Variables*. Brochure in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt: GIT-Verlag 1996.

CREJ2

Creatinine Jaffé Gen.2 - Compensated Method for Serum and Plasma

cobas[®]
Substrates

14 Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Hill W, et al. *Die Qualität Diagnostischer Proben*, 6. Aufl. Heidelberg: BD Diagnostics, 2009.

15 Glick MR, Pyda KW, Jackson SA. *Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation*. *Clin Chem* 1989;32:470-475.

16 Breuer J. *Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods"*. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:385-386.

17 Sonntag O, Scholer A. *Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies*. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-385.

18 Kroll MH. *Some observations on the reaction mechanism of Creatinin and Creatinidin with picrate*. *Mikrochem J* 1990;42:241-249.

19 Ducharme MP, Smythe M, Shole G. *Drug-induced alterations in serum creatinine concentrations*. *Ann Pharmacother* 1993;27:822-833.

20 Bakker AJ, Mücke M. *Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention*. *Clin Chem Lab Med* 2007;45(9):1240-1243.

21 Wuyts B, Bernard D, van den Noortgaae N, et al. *Reevaluation of Formulas for Predicting Creatinine Clearance in Adults and Children Using Compensated Creatinine Methods*. *Clin Chem* 2002;48:1011-1014.

22 Mazzuchi BC, Pivale MJ, Ehrhard V. *Reference Range and Method Comparison Studies for Enzymatic and Jaffé Creatinine Assays in Plasma and Serum and Early Morning Urine*. *Clin Lab* 2000;53-55.

23 Schlöblich H, Kappas N, Kahna E, et al. *High Sensitive CPP and Creatinine: Reference Intervals from Infancy to Childhood*. *J Lab Med* 2002;26:341-346.

24 Jungo W, Wilke B, Halabi A, et al. *Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffé method*. *Clin Chim Acta* 2004;344:137-148.

25 Zavis M, Delarighe J, Tass Y, et al. *Analytical Compensation for Pseudo-Creatinine Interferences of the Creatinine Jaffé Method and Its Effect on Creatinine Clearance Results*. *Clin Chem Part 2, Suppl* 5 June 2001;48(6):487.

26 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. *A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part II*. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):785-790.

A point (period) is always used in this Method Sheet as the decimal separator to mark the border between the integral and the fractional parts of a decimal numeral. Separators for thousands are not used.

Symbols

Roche Diagnostics uses the following symbols and signs in addition to those listed in the ISO 15223-1 standard for USA: see diag.roche.com for definition of symbols used:

	Contents list
	Volume after reconstitution or mixing
	Global Trade Item Number

FOR US CUSTOMERS ONLY: LIMITED WARRANTY

Roche Diagnostics warrants that this product will meet the specifications stated in the labeling when used in accordance with such labeling and will be free from defects in material and workmanship until the expiration date printed on the label. THIS LIMITED WARRANTY IS IN LIEU OF ANY OTHER WARRANTY, EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR PARTICULAR PURPOSE. IN NO EVENT SHALL ROCHE DIAGNOSTICS BE LIABLE FOR INCIDENTAL, INDIRECT, SPECIAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES.

COBAS, COBAS C, COBAS INTEGRA, PRECISECHECK, MICROCHECK and PRECHECK are trademarks of Roche.

No other product names and trademarks are the property of their respective owners.

Additional notices or changes are indicated by a change bar in the margin.

©2015 Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68229 Mannheim, www.roche.com

Distribution in USA by:

Roche Diagnostics, Indianapolis, IN
22 Calumet Technical Support 1-800-526-2228



Annexe 4: prospectus CREP2

CREP2

Creatinine plus ver.2

Order information

REF	CONTENT	Analyzer(s) on which cobas c pack(s) can be used
03263991 100	Creatinine plus ver.2 (250 tests)	System-ID 07 6612 7 COBAS INTEGRA 400 plus
10759350 100	Calibrator i.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6
10759350 360	Calibrator i.a.s. (12 x 3 mL, for USA)	System-ID 07 3718 6
12149435 122	PreciNorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7990 7
12149435 180	PreciNorm U plus (10 x 3 mL, for USA)	System-ID 07 7990 7
12149443 122	PreciPath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6
12149443 180	PreciPath U plus (10 x 3 mL, for USA)	System-ID 07 8000 6
05117003 100	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 100	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3
05947626 180	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, for USA)	System-ID 07 7469 3
05117216 100	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 100	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7
05947774 180	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, for USA)	System-ID 07 7470 7
03121313 122	PreciNorm PUC (4 x 3 mL)	System-ID 07 6756 5
03121291 122	PreciPath PUC (4 x 3 mL)	System-ID 07 6757 3

English

System information

Test CRE2, test ID 0-612 (serum, plasma)

Test CRE2U, test ID 0-512 (urine)

Intended use

In vitro test for the quantitative determination of the creatinine concentration in human serum, plasma, and urine on COBAS INTEGRA systems.

Summary^{1,2,3,4}

Chronic kidney disease is a worldwide problem that carries a substantial risk for cardiovascular morbidity and death. Current guidelines define chronic kidney disease as kidney damage or glomerular filtration rate (GFR) less than 60 mL/min per 1.73 m² for three months or more, regardless of cause.

The assay of creatinine in serum or plasma is the most commonly used test to assess renal function. Creatinine is a break-down product of creatine phosphate in muscle, and is usually produced at a fairly constant rate by the body (depending on muscle mass). It is freely filtered by the glomeruli and, under normal conditions, is not re-absorbed by the tubules to any appreciable extent. A small but significant amount is also actively secreted.

Since a rise in blood creatinine is observed only with marked damage of the nephrons, it is not suited to detect early stage kidney disease. A considerably more sensitive test and better estimation of glomerular filtration rate (GFR) is given by the creatinine clearance test based on creatinine's concentration in urine and serum or plasma, and urine flow rate. For this test a precisely timed urine collection (usually 24 hours) and a blood sample are needed. However, since this test is prone to error due to the inconvenient collection of timed urine, mathematical attempts to estimate GFR based only on the creatinine concentration in serum or plasma have been made. Among the various approaches suggested, two have found wide recognition: that of Cockcroft and Gault and that based on the results of the MDRD trial. While the first equation was derived from data obtained with the conventional Jaffe method, a newer version of the second is usable for IDMS-traceable creatinine methods. Both are applicable for adults. In children, the Bedside Schwartz formula should be used.^{5,6,7,8}

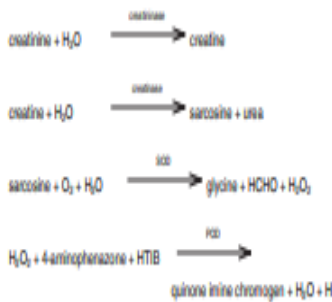
In addition to the diagnosis and treatment of renal disease, the monitoring of renal dialysis, creatinine measurements are used for the calculation of the fractional excretion of other urine analytes (e.g. albumin, α-amylase). Numerous methods were described for determining creatinine. Automated assays established in the routine laboratory include the Jaffe alkaline picrate method in various modifications, as well as enzymatic tests.

Test principle

Enzymatic colorimetric method

This enzymatic method is based on the conversion of creatinine with the aid of creatinase, creatinase, and sarcosine oxidase to glycine, formaldehyde and hydrogen peroxide. Catalyzed by peroxidase the liberated hydrogen peroxide reacts with 4-aminophenazone and HTIB⁹ to form a quinone imine

chromogen. The color intensity of the quinone imine chromogen formed is directly proportional to the creatinine concentration in the reaction mixture.



Creatinine of the sample is destroyed by creatinase, SOD and catalase during incubation in R1.

4-(2,4,6-trihydroxyphenyl)acetic acid

Reagents - working solutions

- R1** TAPSP¹⁰ buffer: 30 mmol/L, pH 8.1; creatinase (microorganisms): ≥ 332 µkat/L; sarcosine oxidase (microorganisms): ≥ 132 µkat/L; ascorbate oxidase (microorganisms): ≥ 33 µkat/L; catalase (microorganisms): ≥ 1.67 µkat/L; HTIB: 1.2 g/L; detergent; preservative
- SR** TAPSP¹⁰ buffer: 50 mmol/L, pH 8.0; creatinase (microorganisms): ≥ 498 µkat/L; peroxidase (horses/adrenal): ≥ 16.6 µkat/L; 4-aminophenazone: 0.5 g/L; potassium hexacyanoferrate (II): 60 mg/L; detergent; preservative

1) 9-Triethylhydroxymethyl-methyl-3-aminopyrenebutyric acid

R1 is in position B and SR is in position C.

Precautions and warnings

Pay attention to all precautions and warnings listed in Section 1 / Introduction of this Method Manual.

For USA: Caution: Federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

Reagent handling

Ready for use



CREP2

Creatinine plus ver.2



Storage and stability

Shelf life at 2-8 °C	See expiration date on cobas c pack label
On-board in use at 10-15 °C	8 weeks

Specimen collection and preparation

For specimen collection and preparation only use suitable tubes or collection containers.

Only the specimens listed below were tested and found acceptable.

Serum

Plasma: Li-heparin, Na-heparin, K₂-EDTA, or Na₂-EDTA plasma

The sample types listed were tested with a selection of sample collection tubes that were commercially available at the time of testing, i.e. not all available tubes of all manufacturers were tested. Sample collection systems from various manufacturers may contain differing materials which could affect the test results in some cases. When processing samples in primary tubes (sample collection systems), follow the instructions of the tube manufacturer.

Urine: Collect urine without using additives. If urine must be collected with a preservative for other analytes, only hydrochloric acid (14-47 mmol/L urine, e.g. 5 mL 10 % HCl or 5 mL 30 % HCl per liter urine) or boric acid (81 mmol/L, e.g. 5 g per liter urine) may be used. Urine samples are automatically prediluted 120 (1+19) with water by the instrument.

Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay.

See the limitations and interferences section for details about possible sample interferences.

Sample stability claims were established by experimental data by the manufacturer or based on reference literature and only for the temperatures/time frames as stated in the method sheet. It is the responsibility of the individual laboratory to use all available references and/or its own studies to determine specific stability criteria for its laboratory.

Stability in serum/plasma ¹⁰	7 days at 15-25 °C
	7 days at 2-8 °C
	3 months at (-15)-(-25) °C
Stability in urine (without preservative) ¹⁰	2 days at 15-25 °C
	6 days at 2-8 °C
	6 months at (-15)-(-25) °C
Stability in urine (with preservative)	3 days at 15-25 °C
	8 days at 2-8 °C
	3 weeks at (-15)-(-25) °C

Materials provided

See "Reagents - working solutions" section for reagents.

Assay

For optimum performance of the assay follow the directions given in this document for the analyzer concerned. Refer to the appropriate operator's manual for analyzer-specific assay instructions.

Applications for serum, plasma, and urine

Test definition

Measuring mode	Absorbance
Abs. calculation mode	Endpoint
Reaction direction	Increase
Wavelength A/B	552/659 nm
Calc. first/last	35/65
Serum, plasma	
Reaction mode	R1-S-R
Unit	µmol/L

Urine

Reaction mode	D-R1-S-R
Predilution factor	20
Unit	mmol/L

Pipetting parameters

Serum, plasma	Diluent (H ₂ O)
R1	77 µL
Sample	2 µL 5 µL
SR	38 µL
Total volume	122 µL
Urine	Diluent (H ₂ O)
R1	77 µL
Sample	2 µL 5 µL
SR	38 µL
Total volume	122 µL

Calibration

Calibrator	Calibrator i.a.s.
	Use deionized water as zero calibrator.
Calibration mode	Linear regression
Calibration replicate	Duplicate recommended
Calibration interval	Each lot and as required following quality control procedures

Calibration interval may be extended based on acceptable verification of calibration by the laboratory.

Traceability: This method has been standardized against IDMS.

Quality control

Quality control serum/plasma	PreciNorm U plus or PreciControl ClinChem Multi 1
	PreciPath U plus or PreciControl ClinChem Multi 2
Quality control urine	PreciNorm PUC or PreciPath PUC
Control interval	24 hours recommended
Control sequence	User defined
Control after calibration	Recommended

For quality control, use control materials as listed in the "Order information" section. In addition, other suitable control material can be used.

The control intervals and limits should be adapted to each laboratory's individual requirements. Values obtained should fall within the defined limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the defined limits.

Follow the applicable government regulations and local guidelines for quality control.

Calculation

The COBAS INTEGRA 400 plus analyzer automatically calculates the analyte concentration of each sample. For more details, please refer to Data Analysis in the Online Help.

Conversion factor: µmol/L × 0.0113 = mg/dL

Limitations - interference

Citation: Recovery within ± 10 % of initial value.

Serum, plasma

Idents:¹¹ No significant interference up to an index of 20 for conjugated and unconjugated bilirubin (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 340 µmol/L or 20 mg/dL).

CREP2
 Creatinine plus ver.2

cobas[®]
 Substrates

Hemolysis:¹¹ No significant interference up to an H index of 800 (approximate hemoglobin concentration: 407 µmol/L or 800 mg/dL).
 Lipemia (Intralipid):¹² No significant interference up to an L index of 1000. There is poor correlation between the L index (corresponds to turbidity) and triglycerides concentration.

Drugs: No interference was found at therapeutic concentrations using common drug panels.^{13,14}
 Exceptions: Rifampicin, levodopa and calcium dobesilate cause artificially low creatinine levels at the tested drug level while N-ethylglycine and DL-proline at a concentration of > 1 mmol/L causes falsely high results.
 2-Phenyl-1,3-indanone (Phenindion) at therapeutic concentrations interferes with the assay.
 Dicyclopentyl (Ethinylestradiol) at therapeutic concentrations may lead to false-low results.¹⁵

As tested according to CLSI recommendation methyldopa causes artificially low creatinine results.¹⁶
 Ascorbic acid: No significant interference up to an ascorbic acid concentration of 1.70 mmol/L (30 mg/dL).

Acetaminophen intoxications are frequently treated with N-Acetylcysteine. N-Acetylcysteine at a plasma concentration above 333 mg/L and the Acetaminophen metabolite N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) independently may cause falsely low results.

Venipuncture should be performed prior to the administration of Metazocin. Venipuncture immediately after or during the administration of Metazocin may lead to falsely low results. A significant interference may occur at plasma Metazocin concentrations above 0.05 mg/mL.

In very rare cases, gammopathy, in particular type IGM (Waldenström's macroglobulinemia), may cause unreliable results.¹⁷
 No significant interference up to a creatinine concentration of 0.38 mmol/L (50 mg/L).

Urine
 Drugs: No interference was found at therapeutic concentrations using common drug panels.¹⁸
 Exceptions: Methyldopa and levodopa causes artificially low results. Dicyclopentyl (Ethinylestradiol) at therapeutic concentrations may lead to false-low results.

Acetaminophen, Acetylcysteine and Metazocin are metabolized quickly. Therefore, interference from these substances is unlikely but cannot be excluded.

No significant interference up to a creatinine concentration of 3.05 mmol/L (40 mg/dL).

Criterion: Recovery within ± 10 % of initial value at a creatinine concentration of 2500 µmol/L (28.3 mg/dL).

Urea: No significant interference from urea up to a concentration of 2100 mmol/L (12612 mg/dL).

High homocysteine acid concentrations in urine samples lead to false results.
 Estimation of the Glomerular Filtration Rate (GFR) on the basis of the Schwartz Formula can lead to an overestimation.¹⁹

For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

ACTION REQUIRED
Special Wash Programming: The use of special wash steps is mandatory when certain test combinations are run together on COBAS INTEGRA analyzers. Refer to the CLEAN Method Sheet for further instructions and for the latest version of the Extra wash cycle list.

Where required, special wash/over-wash programming must be implemented prior to reporting results with this test.

Limits and ranges
Measuring range
 Serum/plasma
 5-2700 µmol/L (0.057-30.5 mg/dL)
 Determine samples having higher concentrations via the rerun function. Dilution of samples via the rerun function is a 1:10 dilution. Results from samples diluted using the rerun function are automatically multiplied by a factor of 10.

Urine

0.1-40 mmol/L (1.13-452 mg/dL)
 Determine samples having higher concentrations via the rerun function. Dilution of samples via the rerun function is a 1:5 dilution. Results from samples diluted using the rerun function are automatically multiplied by a factor of 5.

Lower limits of measurement
 Serum/plasma
 Lower detection limit of the test:
 5 µmol/L (0.057 mg/dL)
 The lower detection limit represents the lowest measurable analyte level that can be distinguished from zero. It is calculated as the value lying 3 standard deviations above that of a zero sample (zero sample + 3 SD, repeatability, n = 30).

Urine
 Lower detection limit of the test:
 0.1 mmol/L (1.13 mg/dL)
 The lower detection limit represents the lowest measurable analyte level that can be distinguished from zero. It is calculated as the value lying 3 standard deviations above that of a zero sample (zero sample + 3 SD, repeatability, n = 30).

Expected values
 Serum, plasma
 Adults²⁰

Females	45-84 µmol/L	(0.51-0.95 mg/dL)
Males	59-104 µmol/L	(0.67-1.17 mg/dL)
Children ²¹		
Neonates (premature)	29-87 µmol/L	(0.33-0.98 mg/dL)
Neonates (full term)	27-77 µmol/L	(0.31-0.88 mg/dL)
2- < 12 m	14-34 µmol/L	(0.16-0.39 mg/dL)
1- < 3 y	15-31 µmol/L	(0.18-0.35 mg/dL)
3- < 5 y	23-37 µmol/L	(0.26-0.42 mg/dL)
5- < 7 y	25-42 µmol/L	(0.29-0.47 mg/dL)
7- < 9 y	30-47 µmol/L	(0.34-0.53 mg/dL)
9- < 11 y	29-58 µmol/L	(0.33-0.64 mg/dL)
11- < 13 y	39-60 µmol/L	(0.44-0.68 mg/dL)
13- < 15 y	40-68 µmol/L	(0.46-0.77 mg/dL)

Roche has not evaluated reference ranges in a pediatric population.
 Urine

1st morning urine ²²		
Females	2.55-20.0 mmol/L	(29-226 mg/dL)
Males	3.54-24.6 mmol/L	(40-278 mg/dL)
24h urine ²³		
Females	6-13 mmol/24 h	(70-1510 mg/24 h)
Males	9-19 mmol/24 h	(980-2200 mg/24 h)
Creatinine clearance ²⁴	96-143 mL/min	

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference ranges.

Specific performance data
 Representative performance data on the COBAS INTEGRA analyzers are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

Precision
 Serum/plasma
 Precision was determined using human samples and controls in an internal protocol with repeatability (n = 21) and intermediate precision (1 aliquot per run, 1 run per day, 21 days). The following results were obtained:

CREP2
 Creatinine plus ver.2

cobas[®]
 Substrates

Repeatability	Level 1	Level 2
Mean	89.7 µmol/L (1.02 mg/dL)	329 µmol/L (3.72 mg/dL)
CV	1.6 %	0.7 %

Intermediate precision	Level 1	Level 2
Mean	92.0 µmol/L (1.04 mg/dL)	335 µmol/L (3.79 mg/dL)
CV	1.3 %	0.9 %

Urine
 Precision was determined using human samples and controls in an internal protocol with repeatability (n = 21) and intermediate precision (1 aliquot per run, 1 run per day, 10 days). The following results were obtained:

Repeatability	Level 1	Level 2
Mean	9.35 mmol/L (106 mg/dL)	20.5 mmol/L (232 mg/dL)
CV	0.8 %	1.8 %

Intermediate precision	Level 1	Level 2
Mean	9.35 mmol/L (106 mg/dL)	21.1 mmol/L (238 mg/dL)
CV	2.0 %	3.9 %

Method comparison
 Creatinine values for human serum, plasma and urine samples obtained on a COBAS INTEGRA 400 analyzer using the COBAS INTEGRA Creatinine plus ver.2 reagent (y) were compared with those determined using the commercially available Creatinine plus reagent on a Roche/Hitachi 917 analyzer (x).

Serum/plasma
Roche/Hitachi 917 analyzer Sample size (n) = 53
 Corr. coefficient (r) 0.999
 Lin. regression y = 1.010x + 1.13 mg/dL
 Passing/Bablok²⁵ y = 1.013x - 1.50 mg/dL

The sample concentrations were between 53 and 2300 µmol/L (0.60 and 26.1 mg/dL).

Urine
Roche/Hitachi 917 analyzer Sample size (n) = 54
 Corr. coefficient (r) 0.998
 Lin. regression y = 0.935x + 0.625 mg/dL
 Passing/Bablok²⁵ y = 0.960x + 0.308 mg/dL

The sample concentrations were between 1.3 and 36 mmol/L (14.7 and 406 mg/dL).

References

- Thomas C, Thomas L. Laboratoriums- und Referenzwerte der Nieren- und Elektrolytchemie. In: Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 6th ed. Frankfurt/Main: TH Books 2005;520-585.
- Lamb E, Newman DJ, Price CP. Kidney function tests in: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders 2006;797-835.
- http://www.kidney.org/
- http://www.nidap.nih.gov/ 2004;60-10643-10673.
- Lamb EJ, Torson CRV, Rodrick PJ. Estimating kidney function in adults using formulas. Ann Clin Biochem 2005;42:321-345.
- Miller WG. Editorial on Estimating glomerular filtration rate. Clin Chem Lab Med 2009;47(9):1017-1019.

- Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, et al. New Equations to Estimate GFR in Children with CKD. J Am Soc Nephrol 2009;20:629-637.
- Schwartz GJ, Work DF. Measurement and Estimation of GFR in Children and Adolescents. Clin J Am Soc Nephrol 2009;4:1632-1643.
- Staples A, LeBlond R, Watkins S, et al. Validation of the revised Schwartz estimating equation in a predominantly non-CKD population. Pediatr Nephrol 2010 Jul 22:25-2326.
- Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Heil W, et al. Die Qualität Diagnostischer Proben, 6. Aufl. Heidelberg: BD Diagnostics, 2009.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferents in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- Sorntaj D, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- Daszyc M, Wiewiora O, Benowska M. Ethinylestradiol (Dicyclopentyl) Interference in Determination of Serum Creatinine, Uric Acid, Triglycerides, and Cholesterol in Assays Involving the Trinder Reaction. In: Wu and In Vitro. Clin Lab 2014;60(1):373-376.
- CLSI. Interference testing in Clinical Chemistry: Approved Guidelines-Second Edition. CLSI document EP7-A2. Wayne, Pennsylvania, 2005.
- Bakker AJ, Mielke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- Filmer G, Pfäm F, Lepage N, et al. β-Traace Protein, Cystatin C, β2-Microglobulin, and Creatinine Compared for Detecting Impaired Glomerular Filtration Rates in Children. Clin Chem 2002;48:729-736.
- Mazzachi BC, Peake MJ, Ehrhardt V. Reference Ranges and Method Comparison Studies for Enzymatic and Jaffe Creatinine Assays in Plasma and Serum and Early Morning Urine. Clin Lab 2000;53:55.
- Schleibsch H, Lippig N, Klein G. Creatinine and ultrasensitive CRP: Reference Intervals from Infancy to Childhood. Clin Chem Lab Med 2011;39 Special Supplement PO:10421-448.
- Jungo W, Wilke B, Halabi A, et al. Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffe method. Clin Chem Acta 2004;344:137-148.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method comparison studies in clinical chemistry. Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):763-790.

A point (period) is always used in this Method Sheet as the decimal separator to mark the border between the integral and the fractional parts of a decimal numeral. Separators for thousands are not used.

Symbols
 Roche Diagnostics uses the following symbols and signs in addition to those listed in the ISO 15223-1 standard (for USA: see dialog.roche.com for definition of symbols used):

CONTENTS Contents of kit
→ Volume after reconstitution or mixing
GTN Global Trade Item Number

CREP2
 Creatinine plus ver.2

cobas[®]
 Substrates

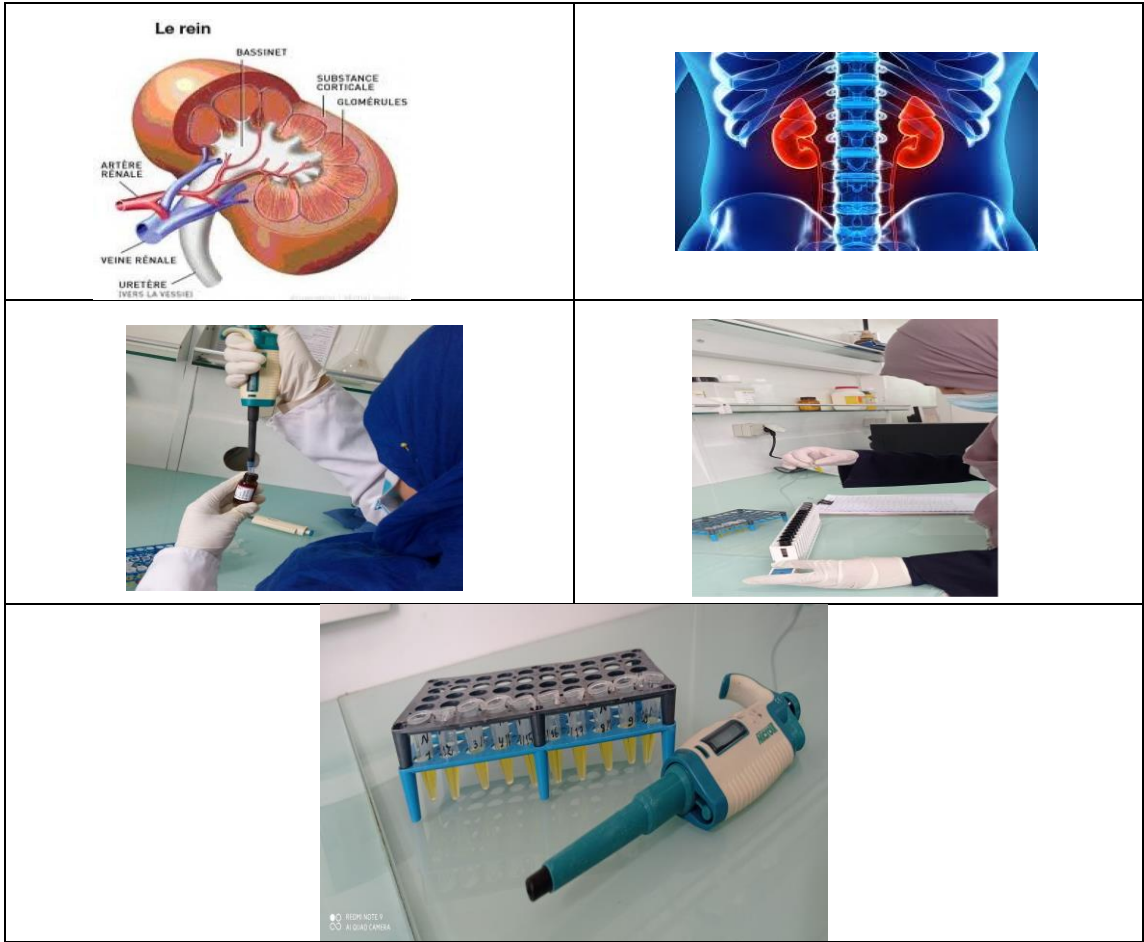
FOR US CUSTOMERS ONLY: LIMITED WARRANTY
 Roche Diagnostics warrants that this product will meet the specifications stated in the labeling when used in accordance with such labeling and will be free from defects in material and workmanship until the expiration date printed on the label. THIS LIMITED WARRANTY IS IN LIEU OF ANY OTHER WARRANTY, EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR PARTICULAR PURPOSE. IN NO EVENT SHALL ROCHE DIAGNOSTICS BE LIABLE FOR INCIDENTAL, INDIRECT, SPECIAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES.

COBAS, COBAS C, COBAS INTEGRA, PRECISION, PRECIPIY 14 and PRECIPICONTROL are trademarks of Roche.
 All other product names and trademarks are the property of their respective owners.
 Additions, deletions or changes are indicated by a change bar in the change.
 © 2019, Roche Diagnostics

CE
 Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 118, D-68229 Mannheim, www.roche.com
 Distribution in USA by:
 Roche Diagnostics, Indianapolis, IN
 US Customer Technical Support 1-800-699-2028



ANNEXES



RESUMIE

RESUME

De nos jours, la créatinine reste encore le principal bio-marqueur utilisé pour le calcul des formules permettant d'estimer la clairance de la créatinine endogène (formule de Cockcroft) ou du débit de filtration glomérulaire (formules MDRD, CKD-EPI, BIS I et Schwartz) pour mieux évaluer la fonction rénale. Il existe plusieurs méthodes pour le dosage de la créatinine dans le sang qui sont réparties en méthodes enzymatiques, colorimétriques et chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse (IDMS).

L'objectif de notre étude est de comparer principalement entre les deux méthodes du dosage de la créatinine : la méthode de Jaffé modifiée et la méthode enzymatique, qui sont par la suite utilisées pour comparer les résultats pour chacune des différentes formules, ajoutant à cela l'évaluation des performances analytiques (fidélité, justesse...) pour les deux méthodes de dosage sur *COBAS INTEGRA® 400 plus* et enfin déceler l'intérêt de chacune de ces méthodes.

Dans ce cadre, on a recueilli et dosé 216 échantillons par les deux méthodes au sein du laboratoire central du CHU Frantz Fanon de Blida, unité de biochimie. Les tracés établis de Passing-Bablok et de Bland-Altman nous ont permis d'analyser la concordance et les biais existants entre les deux méthodes d'une part et pour chaque formule d'autre part. Les performances analytiques ont été évaluées par des essais de répétabilité et de reproductibilité en plus des évaluations bibliographiques suivant le protocole de la SFBC

Les résultats obtenus retrouvent une bonne concordance entre les deux méthodes de dosage de la créatinine mais avec une différence proportionnelle et systématique. La différence entre les formules concerne celles de Schwartz et CKD-EPI, elle influe donc sur la classification de l'insuffisance rénale chronique.

Nos résultats ont montré aussi une meilleure performance de la méthode enzymatique dans quelques paramètres analytiques, elle est plus reproductible avec un CV de 2,32% et 2,61% contre 5,53% et 5% (méthode de Jaffé modifiée) et ceci pour les valeurs normales et pathologiques respectivement, elle est aussi plus juste avec un pourcentage de 98,19% et de 99,65% contre une justesse de 93,05% et de 99,78% (méthode de Jaffé modifiée) pour chacune des valeurs normales et pathologiques respectivement. L'hyperbilirubinémie a été significativement plus interférente sur les valeurs de la méthode de Jaffé modifiée que sur ceux de la méthode enzymatique.

Malgré la concordance qu'on trouve entre les deux méthodes, la méthode enzymatique reste donc plus sensible et sélective d'où son utilisation privilégiée dans certaines situations (en pédiatrie, dans les cas des sérums ictériques, quantité basse d'échantillon...), sans oublier aussi que la méthode de Jaffé modifiée garde toujours son intérêt économique et donc son utilité pour les situations non pathologiques.

Mots-clés : insuffisance rénale, estimation de la fonction rénale, méthodes de dosage, Jaffé modifiée, comparaison des techniques, concordance, CG, CKD-EPI, MDRD, BIS I, Schwartz, répétabilité, reproductibilité, performance analytique, DFG.

ABSTRACT

Nowadays, creatinine is still the main biomarker used for the calculation of formulas to estimate the clearance of endogenous creatinine (Cockcroft's formula) or glomerular filtration rate (formulas MDRD, CKD-EPI, BIS I and Schwartz) to better assess kidney function. There are several methods for the determination of creatinine in the blood which are divided into enzymatic, colorimetric and chromatographic methods coupled with mass spectrometry (IDMS).

The objective of our study is to compare mainly between the two methods of the determination of creatinine: the modified Jaffé method and the enzymatic method, which are subsequently used to compare the results for each of the different formulas, adding to this the evaluation of the analytical performances (precision, accuracy, etc.) for the two assay methods on *COBAS INTEGRA® 400* plus and finally detect the interest of each of these methods.

In this context, 216 samples were collected and assayed by the two methods in the central laboratory of the CHU Frantz Fanon in Blida, biochemistry unit. The established paths of Passing-Bablok and Bland-Altman enabled us to analyze the concordance and existing biases between the two methods on the one hand and for each formula on the other hand. Analytical performances were evaluated by repeatability and reproducibility tests in addition to bibliographic evaluations following the SFBC protocol.

The results obtained find a good agreement between the two methods of assaying creatinine but with a proportional and systematic difference. The difference between the formulas is those of Schwartz and CKD-EPI, so it affects the classification of chronic renal failure.

Our results also showed a better performance of the enzymatic method in some analytical parameters, it is more reproducible with a SD of 2.32% and 2.61% against 5.53% and 5% (modified Jaffé method) for both normal and pathological values respectively, it is also more accurate with a percentage of 98.19% and 99.65% against an accuracy of 93.05% and 99.78% (modified Jaffé method) for each of the normal and pathological values respectively. Hyperbilirubinemia was significantly more interfering with the values of the modified Jaffé method than those of the enzymatic method.

Despite the agreement found between the two methods, the enzymatic method therefore remains more sensitive and selective, hence its preferred use in certain situations (in pediatrics, in case of icteric sera, low quantity of sample, etc.), without forgetting that the modified jaffé method still retains its economic interest and therefore its usefulness for non-pathological situations.

Keywords: renal failure, estimation of renal function, assay methods, modified Jaffé, comparison of techniques, concordance, CG, CKD-EPI, MDRD, BIS I, Schwartz, repeatability, reproducibility, analytical performance, DFG.

KAHOUL Kenza kahoulkenza5@gmail.com	TIRICHINE Amina Zoulikha az.tirichine@gmail.com
--	--