

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Constantine 3

Département de pharmacie

Faculté de médecine



Mémoire de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de docteur en
pharmacie

Session : septembre 2020

**L'ELIMINATION DE L'INTERFERENCE DE
LA BILIRUBINE SUR LE DOSAGE DE LA
CREATININE SERIQUE PAR LA METHODE
DE JAFFE CINETIQUE**

Réalisé par :

- ASSAS AMINA
- KENANE FATIMA

Encadré par : Dr. DERRADJ MERIEM

Membres du jury :

- Pr. BOUAB HAROUN
- Dr. FERAGA ESMA

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----------|
| - Liste des tableaux..... | I |
| - Liste des figures..... | II |
| - Liste des abréviations..... | III |
| INTRODUCTION..... | 01 |
| ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE..... | 03 |
| CHAPITRE I : LA CREATININE..... | 04 |
| I-1- Historique..... | 05 |
| I-2- Définition et structure chimique de la créatinine..... | 05 |
| I-3- La nature chimique de la créatinine..... | 06 |
| I-4- Biosynthèse de la créatinine..... | 06 |
| I-5- Mécanisme de sécrétion et d'élimination..... | 07 |
| I-6-La clairance de la créatinine..... | 07 |
| I-7-Les formules basées sur la créatinine..... | 08 |
| I-7-1-L'équation de COCKROFT-GAULT..... | 08 |
| I-7-2-L'équation de MDRD simplifiée..... | 08 |
| I-7-3-L'équation CDK-EPI..... | 09 |
| I-8- L'insuffisance rénale | 10 |
| I-8-1- L'insuffisance rénale aigue..... | 10 |
| I-8-2- L'insuffisance rénale chronique..... | 10 |
| CHAPITRE II: DOSAGE DE LA CREATININE..... | 12 |
| II-1- Intérêt physiopathologique..... | 13 |

| | |
|--|----|
| II-2- Indication du dosage de la créatinine plasmatique..... | 13 |
| II-3-Conditions pré-analytiques..... | 13 |
| II-3-1- Type d'échantillon..... | 13 |
| II-3-1-a- L'échantillon sanguin..... | 13 |
| II-3-1-b- L'échantillon urinaire..... | 14 |
| II-3-2- Stabilité des échantillons..... | 14 |
| II-3-2-a- Stabilité dans le sang..... | 14 |
| II-3-2-b- Stabilité dans le sérum/plasma..... | 15 |
| II-3-2-c- Stabilité dans les urines..... | 15 |
| II-3-3- Condition de transport..... | 15 |
| II-3-4- Identification des prélèvements..... | 15 |
| II-4- La créatinémie..... | 16 |
| II-4-1- Valeurs physiologiques et variations..... | 16 |
| II-4-2- Variations pathologique de la créatiniémie..... | 17 |
| II-5- Spécificité et sensibilité..... | 18 |

CHAPITRE III: METHODES DE DOSAGE DE LA

CREATININE.....19

| | |
|--|----|
| III- Méthodes de dosage de la créatinine sérique..... | 20 |
| III -1- Méthodes colorimétriques (la réaction de Jaffé)..... | 20 |
| III-1-1- Jaffé en point final..... | 21 |
| III-1-1-a- Les avantages..... | 22 |
| III-1-1-b- Les inconvénients..... | 22 |
| III-1-1-c- Les interférences..... | 22 |
| III-1-1-d- La correction..... | 23 |

| | |
|---|----|
| III-1-2- En cinétique..... | 24 |
| III-1-2-a- Les avantages..... | 25 |
| III-1-2-b- Les inconvénients..... | 25 |
| III-1-2-c- La correction..... | 26 |
| III-2- Autres méthodes colorimétriques..... | 27 |
| III-3- Méthodes enzymatiques..... | 27 |
| III-3-1- Méthode à la créatininase ou créatinine amidohydrolase..... | 27 |
| III-3-2- Méthode à la créatinine désaminase ou créatinine iminohydrolase..... | 29 |
| III-3-a- Les avantages..... | 29 |
| III-3-b- Les inconvénients..... | 30 |
| III-4- Méthodes chromatographiques couplées a la spectrométrie de masse..... | 30 |
| III-4-1- Principe..... | 31 |
| III-4-2- Avantages et inconvénients..... | 31 |
| III-5- Méthodes en « chimie sèche »..... | 32 |
| III-6- Données métrologiques..... | 33 |
| III-6-1- Domaine de mesure..... | 33 |
| III-6-2- Reproductibilité..... | 33 |
| III-7- Performances des méthodes d'analyse de routine de la créatinine..... | 33 |
| III-8- Programme de standardisation des méthodes..... | 37 |

**CHAPITRE IV : METHODES DE CORRECTION DE
L'INTERFERENCE DE LA BILIRUBINE SUR LE DOSAGE
DE LA CREATININE SERIQUE PAR LA METHODE DE
JAFFE CINETIQUE39**

| | |
|--------------------------|----|
| IV-1- La bilirubine..... | 40 |
|--------------------------|----|

| | |
|---|----|
| IV-1-1- Définition et structure | 40 |
| IV-1-2- Métabolisme de la bilirubine..... | 40 |
| IV-1-3- Classification de la bilirubine..... | 42 |
| IV-1-4- Valeurs biologiques de la bilirubine..... | 42 |
| IV-2- Interférence de la bilirubine sur la réaction de Jaffé..... | 43 |
| IV-2-1- Dans le sang..... | 43 |
| IV-2-2- Dans l'urine..... | 45 |
| IV-3- L'influence de la concentration de l'acide picrique, et d'hydroxyde, et de la température sur l'interférence de la bilirubine sur la réaction de Jaffé cinétique..... | 45 |
| IV-4-Méthodes de correction de l'interférence de la bilirubine sur le dosage de la créatinine sérique par la méthode de Jaffé cinétique..... | 47 |
| IV-4-1-L'oxydation de bilirubine présente dans l'échantillon..... | 47 |
| IV-4-1-1-Pré-incubation des sérums avec l'hydroxyde de sodium..... | 47 |
| IV-4-1-2-L'addition de ferrocyanure de potassium et de dodecyl-sulfate de sodium..... | 51 |
| IV-4-1-3-Bilirubine oxydase..... | 54 |
| IV-4-1-a-Comparaison entre les méthodes de correction par le ferrocyanure de potassium et la bilirubine oxydase..... | 55 |
| IV-4-1-4-Prétraitement des échantillons de sérum avec de la peroxydase et du H ₂ O ₂ | 57 |
| IV-4-2-Déprotéinisation du sérum par l'acide Trichloracétique (TCA)..... | 57 |
| IV-4-3-La correction blanc-échantillon..... | 58 |
| IV-4-4-Détermination cinétique potentiométrique de la créatinine dans le sérum avec un picrate électrode a membrane sélective ionique..... | 59 |
| Conclusion..... | 60 |
| Références..... | 62 |

| | |
|--------------|----|
| Résumé..... | 69 |
| Summary..... | 70 |

RESUME

Le dosage de la créatinine est très fréquemment réalisé en pratique quotidienne. La réaction de Jaffé reste la méthode la plus utilisée pour la détermination de ce paramètre, en raison de sa rapidité, la simplicité de sa mise en œuvre, et le faible coût des réactifs. En effet, cette méthode montre des limites en face des sérums fortement ictériques, couramment rencontrés en néonatalogie. Ce qui pourrait être un obstacle dans l'évaluation biochimique des patients atteints du syndrome hépatorénale.

Pour améliorer la spécificité de la réaction de Jaffé, plusieurs techniques ont été utilisées pour séparer la bilirubine de la créatinine tout en essayant de garder une procédure simple, précise et fiable. Parmi ces modifications on a l'oxydation de la bilirubine par une pré-incubation alcaline, l'addition de ferrocyanure de potassium et de dodecyl-sulfate de sodium au réactif de travail et l'utilisation de la bilirubine oxydase. On a également la déprotéinisation du sérum par l'acide trichloracétique, La correction blanc-échantillon et la détermination cinétique potentiométrique de la créatinine. Ces procédures sont applicables dans les laboratoires et garantent de l'efficacité des interprétations médicales ultérieures.

Cependant la pré-incubation du sérum ictérique avec NaOH reste la meilleure approche pour corriger toutes les formes d'interférences de la bilirubine sur la créatinine sérique.

Mots clés : dosage de créatinine, Réaction de Jaffé, interférence de la bilirubine, l'oxydation, précipitation au TCA, blanc-échantillon, potentiométrie.

SUMMARY

The determination of creatinine is very frequently carried out in daily practice. The Jaffe reaction remains the most widely used method for determining this parameter, due to its speed, the simplicity of its implementation, and the low cost of the reagents. In fact, this method shows limits with regard to strongly jaundiced sera, commonly encountered in neonatology. Which could be an obstacle in the biochemical evaluation of patients with hepatorenal syndrome.

To improve the specificity of the Jaffe reaction, several techniques have been used to separate bilirubin from creatinine while trying to keep the procedure simple, precise and reliable. These modifications include the oxidation of bilirubin by alkaline preincubation, the addition of potassium ferrocyanide and sodium dodecyl sulfate to the working reagent, and the use of bilirubin oxidase. We also have deprotenization of serum by trichloroacetic acid, blank correction and potentiometric kinetic determination of creatinine. These procedures are applicable in laboratories and guarantee the effectiveness of subsequent medical interpretations.

However, pre-incubation of icteric serum with NaOH remains the best approach to correct all forms of interference of bilirubin on serum creatinine.

Keywords: creatinine assay, Jaffe reaction, bilirubin interference, bilirubin elimination, oxidation, TCA precipitation, sample blank, potentiometry.