

ARTICLE ORIGINAL

Recommandations pour le dosage de la créatinine selon la méthode de Jaffé

Recommendations for the dosage of the creatinine according to the method of Jaffé

Yassine Chaabouni¹,
Abdelhédi Miled²

1 Service du laboratoire
CHU Ibn el Jazzar
KAIROUAN

2 Laboratoire de Biochimie -
CHU Farhat Hached
SOUSSE

Résumé

En 2012, un groupe créatinine créé au sein de la STBC (société tunisienne de biologie clinique) a formulé des propositions afin de réactualiser les recommandations d'optimisation de la méthode de dosage de la créatinine selon la méthode de Jaffé. Cet article reprend l'essentiel de ces recommandations concernant notamment les conditions pré analytiques de ce dosage ainsi que les variantes permettant d'éliminer les interférences de la méthode de Jaffé.

Mots clés : Créatinine, Méthode de Jaffé, Interférences.

Abstract

In 2012, a group creatinine created within the STBC (society Tunisian of clinical biology) formulated proposals to update the recommendations of optimization of the method of dosage of the creatinine according to the method of Jaffé. This article contains the essential of these recommendations concerning particularly the pre-analytical conditions of this assay as well as the variations allowing to eliminate the interferences of the method of Jaffé.

Keywords: Creatinin, Method of Jaffé, Interferences.

INTRODUCTION

La créatinine est le catabolite anhydrique de la créatine stockée dans le muscle et majoritairement éliminée au niveau rénal par filtration glomérulaire. La concentration plasmatique de la créatinine est un élément clé de l'évaluation biologique de la fonction rénale puisqu'elle entre dans le calcul du débit de filtration glomérulaire (DFG) estimé, lui-même pris en compte dans le diagnostic de l'insuffisance rénale et dans l'intervention thérapeutique. Un résultat erroné de la créatinine peut modifier l'estimation du DFG et altérer ainsi la prise en charge des patients atteints de maladie rénale, mais aussi ceux présentant des anomalies cliniques ou biologiques d'origine extra-rénale, un risque de maladie rénale, ou encore nécessitant l'adaptation d'un traitement médicamenteux à la fonction rénale.

La concentration de la créatinine peut être évaluée dans le sang et les urines par deux grands types de techniques : d'une part, les méthodes dérivées de la classique réaction de Jaffé, dites colorimétriques et, d'autre part, les méthodes enzymatiques.

Le groupe créatinine créé au sein de la STBC (société tunisienne de biologie clinique) a fixé comme objectif d'émettre des recommandations d'optimisation de la méthode de dosage de la créatinine selon la méthode de Jaffé.

CONDITIONS PRÉ ANALYTIQUES

Type d'échantillon

Le dosage peut être réalisé sur sérum ou plasma prélevé sur sang capillaire ou veineux [1].

L'anticoagulant le plus fréquemment utilisé est l'héparinate de lithium.

Le prélèvement se fait le matin en raison des variations nyctémérales (avec un maximum à 8 heures et 16 heures).

L'état de jeûne ne semble pas influencer les résultats de la créatinine [2]. Toutefois, il doit être modéré car il peut entraîner une augmentation de la concentration d'acétoacétate qui interfère avec certaines méthodes [3].

La créatinine urinaire est dosée soit dans les urines de 24 h pour apprécier le recueil quotidien et permettre le calcul de la clairance soit dans les urines provenant d'une miction.

Conservation et stabilité des échantillons

Stabilité dans le sang

Il est recommandé de centrifuger (15 min à 2000-3000g) à température ambiante et de décanter rapidement le sang afin de séparer physiquement le sérum ou le plasma des cellules. La méthode de Jaffé est plus sensible au

décali de centrifugation et une surestimation par libération de pseudo-chromogènes peut entraîner des erreurs de classification de la maladie rénale chronique [4,5]. Après centrifugation et en l'absence de décantation, il est recommandé de réaliser le dosage dans les 24 h si la conservation se fait à température ambiante. La présence d'un gel séparateur dans le tube empêche, après centrifugation, la libération des pseudo-chromogènes et améliore la stabilité du dosage, en particulier par la méthode de Jaffé (1). Les mêmes recommandations sont applicables si les tubes sont conservés non décantés à +4°C.

Stabilité dans le sérum/plasma

Le dosage doit être réalisé dans les 2 jours suivant la séparation sérum/plasma/cellules, avec une conservation du sérum/plasma à température ambiante ou à +4°C. Dans le cas d'études biocliniques, il peut être réalisé après congélation à -20°C jusqu'à 4 ans et/ou après avoir subi jusqu'à 6 cycles de congélation/décongélation [1].

Stabilité dans les urines

Les urines doivent être conservées à + 4°C, pour éviter toute contamination bactérienne. Il est recommandé d'éviter l'emploi d'un antiseptique (le merthiolate ou l'azide de sodium peuvent convenir) ; de proscrire l'emploi de conservateurs comme l'acide borique ou le thymol et de refuser tout échantillon acidifié (HCl) ou alcalinisé (NaOH).

Il faut bien homogénéiser la totalité des urines de 24 heures avant de prélever l'échantillon à analyser. La centrifugation est indispensable avant analyse pour éliminer les cristaux urinaires.

Historique et actualités des mises au point de la méthode de Jaffé

En 1886, Jaffé décrit la réaction, qui portera son nom. L'acide picrique en présence de soude forme des ions picrates qui réagissent avec la créatinine pour former le complexe coloré de JANOVSKY (Figure 1) de couleur rouge avec un maximum d'absorption à 520 nm.

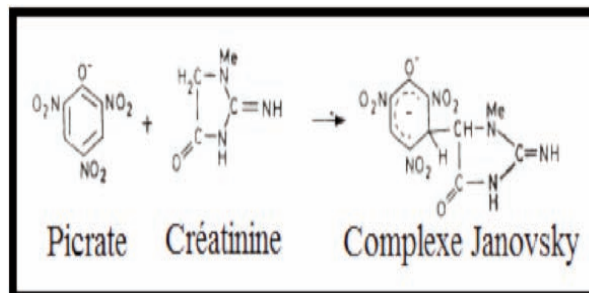


Figure 1 : réaction de Jaffé (6)

En 1905, Folin fut le premier à quantifier véritablement, par colorimétrie, la créatinine dans les urines. En 1924, Abderhalden avait déjà démontré que les protéines peuvent interférer dans la réaction de Jaffé et entraîner une fausse élévation de la concentration en créatinine. Par conséquent, par la suite, toutes les analyses manuelles seront réalisées sur du sérum déprotéinisé. En 1928, Hunter donne une liste de 38 composés théoriquement susceptibles d'interférer avec la réaction de Jaffé. Dans les années suivantes, d'autres auteurs confirmeront que la réaction de Jaffé n'est pas spécifique à la créatinine même après déprotéinisation. Les difficultés historiques sur la mise au point du dosage de la créatinine sérique chez le sujet sain illustrent bien le problème lié aux composants interférant dans la réaction de Jaffé, appelés pseudochromogènes. Ces pseudochromogènes ont une concentration plus ou moins stable mais leur concentration exacte reste difficile à prédire pour un patient donné. L'effet «pseudochromogènes» sera logiquement d'autant plus important sur le résultat final de la créatinine que celle-ci se situe dans des valeurs basses. Pour contourner l'effet des pseudochromogènes, les premiers chercheurs ont pensé utiliser des chélateurs ou adsorbants (Réactif de LLOYD) censés isoler la créatinine à partir des pseudochromogènes (l'analyse étant réalisée par réaction de Jaffé avant et après extraction, la soustraction des deux donnait évidemment la créatinine « vraie »). Ces méthodes restaient bien évidemment manuelles et assez lourdes à mettre en place.

Au début des années 1970, les premiers automates de biologie clinique font leur apparition, ce qui peut être considéré comme une véritable révolution technologique dans le domaine. Il est alors apparu intéressant de mesurer le produit de la réaction non pas à l'équilibre mais lors de sa formation. Il existe des substances qui réagissent plus rapidement que la créatinine (acétoacétate, bilirubine) appelées chromogènes rapides et d'autres qui réagissent plus lentement (céphalosporines, protéines, glucose) appelées chromogènes lents. La part d'erreur due à la non spécificité des méthodes de Jaffé varie entre 8 et 27 % pour une concentration de 40 $\mu\text{mol/L}$ [7]. Le problème de l'élimination de ces chromogènes a été en grande partie résolu par l'utilisation d'une méthode « cinétique » qui s'effectue sur sérum ou plasma non déprotéinisé. Par exemple, la SFBC (Société française de Biologie Clinique) a sélectionné une technique cinétique où les temps de mesure sont compris entre 120 à 150 secondes afin que les chromogènes rapides aient déjà réagi avant le début de la mesure 20 à 40 secondes et que les chromogènes lents n'aient pas encore commencé à réagir avec le picrate de sodium. Ces méthodes cinétiques permettent de diminuer substantiellement, mais pas totalement les interférences. Malgré cette précaution, la méthode reste peu spécifique

et sensible à de nombreuses interférences (bilirubine, hémoglobine fœtale, acide ascorbique, certaines céphalosporines, agents réducteurs en général). Plusieurs sociétés ont utilisé le concept de «Jaffé compensé», introduit par la société Roche Diagnostics. L'idée est de recalibrer le dosage en soustrayant systématiquement 27 $\mu\text{mol/L}$ à tous les résultats, concentration censée refléter la concentration moyenne de pseudochromogènes dans lesang. 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. De plus, cette compensation n'est probablement pas adéquate quand elle est appliquée chez les patients présentant des concentrations pathologiques de protéines ou des concentrations faibles de créatinine (enfants, patients âgés). On observe en effet, des concentrations de créatinine quasi nulles, voire négatives. Cette recalibration est aussi très critiquable pour le dosage de la créatinine dans les urines où il n'y a pas de pseudochromogènes. Actuellement, d'autres sociétés utilisent une compensation mathématique. La manière dont cette compensation est appliquée (soustraction ou application d'une régression) diffère selon les sociétés et les automates, ce qui peut constituer une source de confusion. Ces recalibrations, a priori simples, sont surtout importantes, dans les valeurs normales et basses de créatinine. La précision des méthodes de Jaffé n'est, bien évidemment, nullement améliorée par ces compensations mathématiques et systématiques [8].

L'interférence avec l'acétoacétate est éliminée par l'augmentation de la concentration en acide picrique (50 mmol/L) [9] ou en effectuant la lecture de l'absorbance après 20 secondes et en l'utilisant comme « blanc » [10,11].

La bilirubine génère une interférence négative avec les méthodes de Jaffé. La bilirubine est instable en milieu alcalin, elle s'oxyde en biliverdine qui diminue ou masque la coloration formée par le complexe créatinine et picrate de sodium. Différentes approches ont été proposées pour minimiser cette interférence : l'ajout d'un tensioactif (dodecyl sulfate de sodium) permet de prévenir l'oxydation de la bilirubine ; une pré-incubation pour l'oxydation de la bilirubine avec du ferricyanure de potassium ou avec la bilirubine oxydase et modification de la méthode de Jaffé en cinétique avec blanc échantillon reconnue sous le terme « Jaffé rate blanked » (l'exemple correspond à l'automate Hitachi) [12]. L'efficacité de cette dernière méthode est actuellement reconnue et concernant l'interférence avec la bilirubine, certains auteurs préfèrent ce type de méthode de Jaffé à une méthode enzymatique [13].

L'hémoglobine adulte détruite en milieu alcalin n'interfère pas sur la réaction de Jaffé mais la présence

de l'hémoglobine fœtale (HbF) génère une interférence négative. La méthode de Jaffé en cinétique avec blanc échantillon corrige partiellement l'interférence de l'HbF (12). Les lipides n'ont pas d'interférences sur la réaction de Jaffé.

D'après les recommandations du NKDEP (National Kidney Disease Education Program), une méthode doit suivre un programme de standardisation traçable par rapport à une méthode de référence de premier ordre, qu'est la spectrométrie de masse par dilution isotopique (IDMS). La phase séparative peut être réalisée par chromatographie gazeuse (GC-IDMS) ou liquide (LC-IDMS) pour le dosage de créatinine [14]. Les valeurs des calibrateurs doivent être traçables directement par la méthode IDMS ou par rapport à des matériels de référence commutables. Depuis 2007, le standard NIST SRM967, commutable, est disponible à 2 niveaux de concentration, 66,5 et 346,2 $\mu\text{mol/L}$. Seules les trousseaux répondant à des exigences de l'ISO 17511 : 2003 devraient être utilisés [8].

Aujourd'hui, la mesure de la créatinine par la méthode de Jaffé en cinétique est la plus utilisée. D'après le contrôle national de qualité, la réaction de Jaffé est adoptée par plus de 97% des laboratoires de biologie médicale tunisiens (15).

CONCLUSION

Le raccordement des méthodes de dosage de la créatinine à une méthode de référence de type LC-IDMS est aujourd'hui incontournable. C'est la piste explorée par la firme Roche qui, parmi les techniques de Jaffé, propose une méthode de compensation de la coloration liée aux chromogènes non spécifiques, en particulier les protéines, issue de mesures comparatives avec une technique de spectrométrie de masse avec dilution isotopique (ID-MS). Les résultats de cette méthode se rapprochent le plus des résultats obtenus par CLHP. Cependant, ce type de démarche ne prendrait toute sa valeur que si elle était entreprise de concert par tous les industriels. Dans le cas contraire elle ne fera qu'augmenter la dispersion inter-laboratoires.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bargnoux AS, Boutten A, Cambillau M, Carlier MC, Cavalier E, Cristol JP et al. Groupe de travail SFBC. Recommandations pour le choix et l'harmonisation des techniques de dosage de la créatinine. *Ann Biol Clin* 2011 ; 69(1) : 9-16.
- Cerioti F, Boyd JC, Klein G, Henny J, Queralto J, Kairisto V, et al. Reference intervals for serum creatinine concentrations: assessment of available data for global application. *Clin Chem* 2008; 54: 559-66.
- Bouten A. Créatinine. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Biologie clinique, 90-10-0345, 2010.
- Shepherd J, Warner MH, Kilpatrick ES. Stability of creatinine with delayed separation of whole blood and implications for eGFR. *Ann Clin Biochem*. 2007 ;44 :384-7
- Ford L, Berg J. Delay in separating blood samples affects creatinine measurement using the Roche kinetic Jaffe method. *Ann Clin Biochem*. 2008;45:83-7.
- Butler AR. The Jaffé Réaction. Part II. A Kinetic Study of the Janovsky Complexes formed from Creatinine (2-Imino-1-methylimidazol-4-one) and Acetone. *J.C.S Perkin II* 1975; 853-857
- Parry DM. Use of single-value protein compensation of the Jaffe creatinine assay contributes to clinically significant inaccuracy in results. *Clin Chem*. 2008; 54 :215-6.
- Delanaye P, Cavalier E, Maillard N, Krzesinski JM, Mariat C, Cristol JP, et al. La créatinine : d'hier à aujourd'hui. *Ann Biol Clin* 2010 ; 68 (5) : 531-43.
- Bowers LD, Wong ET. Kinetic serum creatinine assays. II. A critical evaluation and review. *Clin Chem* 1980;26:555-61.
- Weber. J.A, Zanten A.P. Interferences in Current Methods for measurements of creatinine. *Clin Chem* 1991; 37: 695-700.
- Peake M, Whiting M. Measurement of serum creatinine--current status and future goals. *Clin Biochem Rev*. 2006 ;27(4):173-84.
- Owen LJ, Keevil BG. Does bilirubin cause interference in Roche creatinine method? *Clin Chem* 2007; 53: 370-1.
- Cobbaert CM, Baadenhuijsen H, Weykamp CW. Prime time for enzymatic creatinine methods in pediatrics. *Clin Chem* 2009 ; 55: 549-58.
- Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, et al; National Kidney Disease Education Program Laboratory Working Group. Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem*. 2006; 52(1):5-18.
- Mami N., Gasri M., Asli R., Ghariani N. Evaluation des techniques de dosage de la créatininémie par le contrôle national de qualité. *Rev Tun Biol Clin. Sup, Mai* 2013 : 46.