

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FARHAT ABBAS SETIF-1

FACULTE DE MEDECINE

THESE :

**POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES
MEDICALES**

TITRE :

**Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit
de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence
utilisant l'iohexol comme marqueur dans la population
algérienne**

Présentée le 27/09/2022

Par DR Maâchi Abdelkrim

JURY :

PRESIDENT : Professeur MALEK RACHID

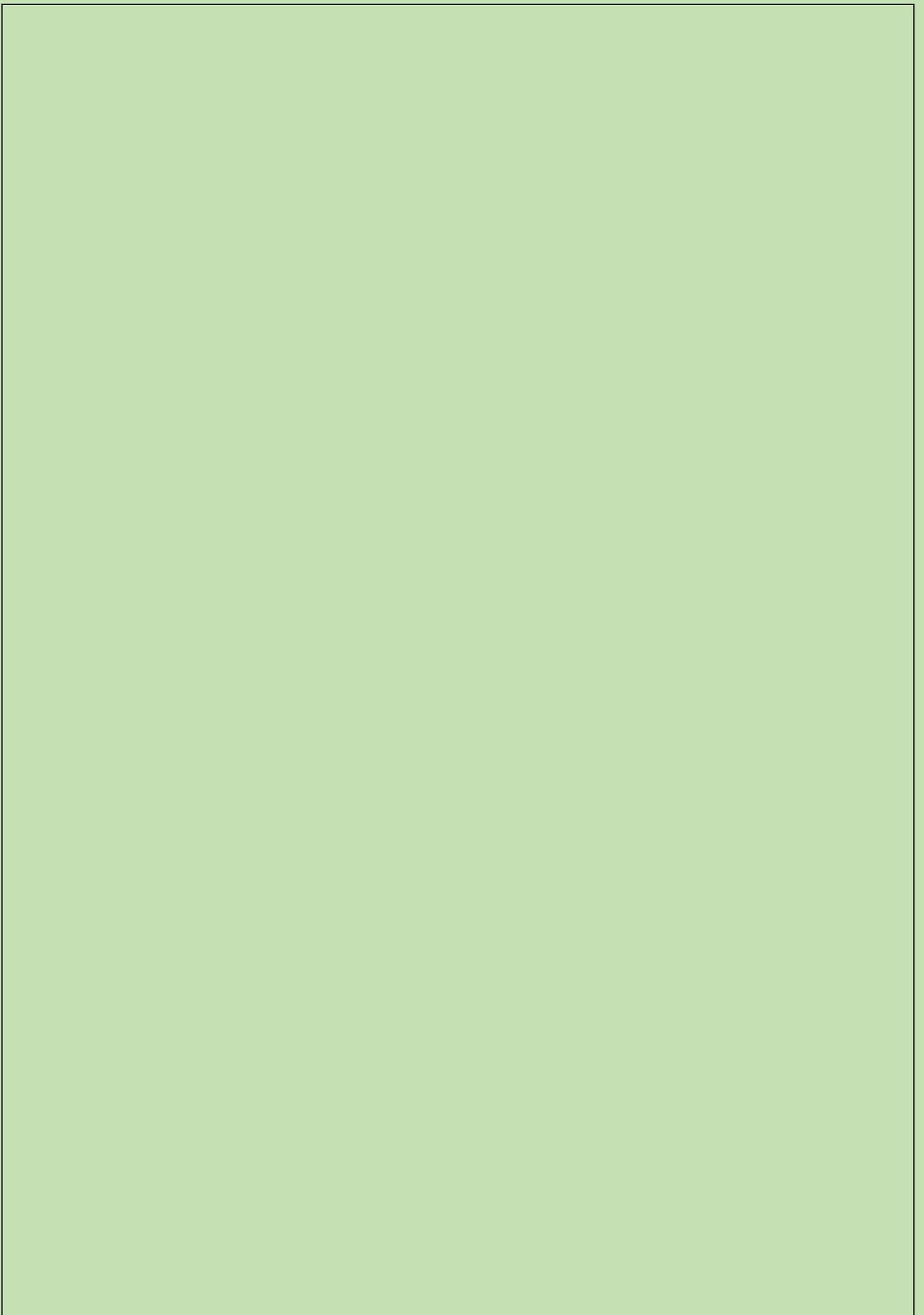
MEMBRES : Professeur HAMMOUCHE MUSTAPHA

Professeur AMRANE MOUNIRA

Professeur BAHAMIDA BAYA

Professeur MISSOUM SOUMIA

DIRECTEUR DE THESE : Professeur RAYNE TAHAR



Résumé

Introduction :

Nous avons évalué les performances des formules d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) avec deux techniques de dosage de la créatinine (enzymatique et Jaffé cinétique) par rapport à la méthode de référence de mesure du DFG utilisant l'iohexol comme marqueur chez la population algérienne.

Méthode :

Il s'agit d'une transversale, ayant concerné 100 sujets adultes, qui sont soit des volontaires ou des donneurs de rein avec quelques patients avec insuffisance rénale. Ils ont bénéficié après accord du comité d'éthique et après avoir donné leurs accord par écrit, d'une mesure du débit de filtration glomérulaire par clairance plasmatique de l'iohexol et une estimation du débit de filtration glomérulaire par trois formules Cockcroft-Gault, MDRD à quatre variables et CKD-Epi avec deux techniques de mesure de la créatinine (Jaffé cinétique et enzymatique traçables en IDMS).

Les performances de ces formules ont été évaluées par le biais absolu et l'exactitude à 10% et 30%.

Résultat :

Age moyen : $42,3 \pm 13,4$ et 60 femmes et 40 hommes. La validation du dosage de l'iohexol a donné les résultats suivants : coefficient de variation autour de 1% sauf pour la concentration de $16 \mu\text{mol/ml}$ qui était de 6%, le recouvrement avoisine les 100% et le biais relatif inférieur à 15%.

Le DFG $88,27 \pm 27,70 \text{ ml/mn}/1,73 \text{ m}^2$. DFGm vs MDRD enz. biais absolu $10,8 \pm 34,6 \text{ ml/mn}/1,73 \text{ m}^2$, P10 47% et P30 à 76%. DFGm vs MDRD cin. biais absolu à $12 \pm 35,2 \text{ ml/mn}/1,73 \text{ m}^2$, P10 à 38% et P30 à 69%.

DFGm vs CKD-Epi enz. biais absolu $9,72 \pm 20,21 \text{ ml/mn}/1,73 \text{ m}^2$, P10 à 38% et P30 à 81%. DFGm vs CKD-Epi cin. biais absolu à $10,86 \pm 25,15 \text{ ml/mn}/1,73 \text{ m}^2$, P10 à 34% et P30 à 76%.

DFGm vs Cockcroft enz. biais absolu $35,53 \text{ ml/mn}/1,73 \text{ m}^2$, P10 à 24% et P30 à 57%. DFGm vs Cockcroft cin. biais absolu $37,61 \text{ ml/mn}/1,73 \text{ m}^2$ P10 à 16% et P 30 à 52%.

Conclusion :

Les performances de la formule de Cockcroft-Gault sont très médiocres par rapport aux autres formules (MDRD et CKD-Epi) qui nécessitent tout de même évaluation par facteur ethnique à déterminer par une autre étude. La technique de dosage de la créatinine n'a pas influencé les résultats.

Summary

Introduction.

We evaluated the performance of glomerular filtration rate (GFR) estimation formulas with two creatinine assay techniques (enzymatic and kinetic Jaffé) against the reference method of GFR measurement using Iohexol as a marker in the Algerian population.

Method.

This is a cross-sectional study, having involved 100 adult subjects, who are either volunteers or kidney donors with some patients with renal failure. They benefited from a measurement of glomerular filtration rate by plasma clearance of Iohexol and an estimation of glomerular filtration rate by three formulas Cockcroft-Gault, MDRD with four variables and CKD-Epi with two techniques of measurement of creatinine (Jaffé kinetic and enzymatic tracing in IDMS).

The performance of these formulas was evaluated by absolute bias and accuracy at 10% and 30%.

Result.

Mean age: 42.3 ± 13.4 and 60 women and 40 men. Validation of the Iohexol assay yielded the following results: coefficient of variation around 1% except for the $16\mu\text{mol/ml}$ concentration, which was 6%, the recovery, was close to 100% and the relative bias less than 15%.

mGFR 88.27 ± 27.70 ml/min/1.73 m². mGFR vs MDRD enz. absolute bias 10.8 ± 34.6 ml/min/1.73 m², P10 47% and P30 at 76%. mGFR vs MDRD cin, absolute bias at 12 ± 35.2 ml/min/1.73 m², P10 at 38% and P30 at 69%.

mGFR vs CKD-Epi enz. absolute bias 9.72 ± 20.21 ml/min/1.73 m², P10 at 38% and P30 at 81%. mGFR vs CKD-Epi cin. Absolute bias at 10.86 ± 25.15 ml/min/1.73 m², P10 at 34% and P30 at 76%.

mGFR vs Cockcroft enz. Absolute bias 35.53 ml/min/1.73 m², P10 at 24% and P30 at 57%. mGFR vs Cockcroft cin. absolute bias 37.61 ml/min/1.73 m² P10 to 16% and P30 to 52%.

Conclusion.

The performance of the Cockcroft-Gault formula is very poor compared to the other formulas (MDRD and CKD-Epi) which still need to be evaluate by ethnic factor to be determined by another study. The creatinine measurement technique did not influence the results.

Dédicaces

A ma chère grand-mère

Les années passent et le temps passe je n'arrive pas à t'oublier, toi qui a toujours été présente à mes côtés, me couvrant de ton affection. Malgré toutes ces années tes souvenirs sont toujours présents dans mon cœur. La tristesse de ta disparition m'habite encore, pour me soulager je prie tous les jours le tout puissant qu'il t'accorde sa sainte miséricorde et t'accueille en son vaste paradis.

A mon cher défunt père

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, je tiens à honorer l'homme que tu as été.

Grace à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension.

Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Ta disparition brutale a été pour moi un événement très douloureux dont je ressens les effets à ce jour et qui m'a stoppé dans mon élan et a anéanti mon ambition.

Par ce modeste travail, je tenais à honorer ta mémoire.

J'implore le tout puissant pour qu'il t'accorde sa sainte miséricorde et t'accueille en son vaste paradis.

A ma chère mère

Quoi que je fasse ou je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit.

Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Je t'aime maman. J'implore Dieu le tout puissant qu'il t'accorde une bonne santé.

*A mon épouse Linda, mes enfants Imène et Mohamed
Amine Adil*

Ce travail m'a pris tout mon temps, souvent à vos dépend et vous avez été très patients et compréhensifs. Son aboutissement et sa concrétisation est en grande partie grâce à vous tous. J'ai apprécié votre soutien et vos encouragements, j'ai pu lire à travers vos visages la fierté. Je vous remercie énormément.

A mes sœurs et frères, leurs épouses, mes neveux et nièces

Vous avez transformé ce jour de soutenance en jour de fête, votre présence à mes côtés m'a aidé à surmonter mes difficultés et le stress qui m'envahissait. Je ne saurai vous remercier de vous être déplacé de si loin pour m'encourager et me soutenir.

Remerciements

Président de jury

C'est pour moi un grand honneur de vous voir présider cette thèse. Ce travail est une occasion pour moi professeur Malek Rachid d'apprécier vos qualités humaines et professionnelles. Qu'il me soit permis de vous remercier et de vous exprimer estime et profond respect.

Directeur de thèse

Je remercie chaleureusement toutes les personnes qui m'ont aidé pendant l'élaboration de ma thèse et notamment mon directeur de thèse le professeur Rayane Tahar pour son intérêt et son soutien, sa grande disponibilité et ses nombreux conseils durant la rédaction de ma thèse.

Membres du jury

Je remercie les membres du jury qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir étudier avec attention mon travail.

Professeur Hammouche Mustapha, vous vous êtes déplacé de si loin pour juger ce travail, vos remarques, vos questions pertinentes ont été pour moi un signe de l'intérêt que vous avez manifesté pour ce travail. Recevez cher professeur l'expression de mes plus sincères remerciements et de mon profond respect.

Professeur Amrane Mounira, je ne vous remercierai jamais assez pour tout ce que vous avez fait et le soutien que vous avez apporté pour l'aboutissement de ce travail. Vous avez accepté de juger ce travail avec rigueur, pertinence. Vos remarques ont été très judicieuses.

Professeur Missoum Soumia, merci, encore merci pour tout, surtout de vous vous êtes déplacée de si loin et de juger ce travail. Votre disponibilité, votre gentillesse m'ont tellement marquées, vos remarques témoignent de vos compétences inspirées de la pratique quotidiennes.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX	1
---------------------------	----------

LISTE DES FIGURES	6
--------------------------	----------

ABREVIATIONS UTILISEES	10
-------------------------------	-----------

1 INTRODUCTION	13
-----------------------	-----------

2 LES OBJECTIFS DU TRAVAIL	15
-----------------------------------	-----------

2.1 OBJECTIF PRINCIPAL	15
------------------------	----

2.2 OBJECTIFS SECONDAIRES	15
---------------------------	----

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

3 RAPPELS ANATOMIQUES DU REIN	17
--------------------------------------	-----------

3.1 MACROSCOPIE : LE REIN	17
---------------------------	----

3.2 MICROSCOPIE : LE NEPHRON	18
------------------------------	----

4 ASPECTS PHYSIOLOGIQUES DU REIN	20
---	-----------

4.1 LES FONCTIONS DU REIN	20
---------------------------	----

4.1.1 FONCTION ENDOCRINE	20
--------------------------	----

4.1.2 FONCTION EXOCRINE	20
-------------------------	----

4.1.2.1 La filtration glomérulaire	20
------------------------------------	----

4.1.2.2 Les ajustements tubulaires	21
------------------------------------	----

4.1.3 LA FILTRATION GLOMERULAIRE	21
----------------------------------	----

4.1.3.1 Définition	21
--------------------	----

4.1.3.2 Forces impliquées	21
---------------------------	----

4.1.3.3 Régulation	22
--------------------	----

4.1.3.3.1 Régulation intrinsèque	23
----------------------------------	----

4.1.3.3.1.1 Autorégulation	23
----------------------------	----

4.1.3.3.1.2 Systèmes hormonaux	23
--------------------------------	----

4.1.3.3.1.3 Système rénine angiotensine intra rénal	23
---	----

4.1.3.3.1.4 Système des prostaglandines	24
---	----

4.1.3.3.1.5 Système Kinine – kallibréine (KK)	24
---	----

4.1.3.3.2 Régulation extrinsèque	24
----------------------------------	----

4.1.3.3.2.1	Système nerveux sympathique	24
4.1.3.3.2.2	Hormones extra rénales	25
4.1.3.3.2.2.1	Hormone anti-diurétique (ADH) ou vasopressine (AVP)	25
4.1.3.3.2.2.2	Facteur atrial natriurétique (FAN)	25

5 METHODES D'EVALUATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE (DFG) 25

5.1	MARQUEUR IDEAL DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE (DFG)	25
5.1.1	NOTION DE CLAIRANCE	25
5.1.2	LES DIFFERENTS TYPES DE CLAIRANCES : CLAIRANCE URINAIRE OU PLASMATIQUE	26
5.1.2.1	Clairance urinaire	26
5.1.2.2	Clairances plasmatiques	27
5.1.3	MODELES PHARMACOCINETIQUES DE MESURE DE L'AIRES SOUS LA COURBE	27
5.1.3.1	Modèle à un compartiment (monocompartimental)	27
5.1.3.2	Modèle à deux compartiments (bi-compartimental)	28
5.1.3.3	Modèle à trois compartiments	29
5.1.3.4	Modèle pharmacocinétique simplifiés	29
5.1.3.5	Equation correctrice de Brochner-Mortensen	29
5.2	LES DIFFERENTS MARQUEURS DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE (DFG)	30
5.2.1	LES MARQUEURS ENDOGENES	30
5.2.1.1	La créatinine	30
5.2.1.1.1	Les problèmes liés aux difficultés analytiques	31
5.2.1.1.1.1	Méthodes basée sur la réaction de Jaffé	31
5.2.1.1.1.2	Les méthodes enzymatiques	32
5.2.1.1.2	Les problèmes liés aux inconvénients physiologiques	32
5.2.1.2	La cystatine C	34
5.2.2	LES MARQUEURS EXOGENES	34
5.3	LES METHODES DE DETERMINATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE	35
5.3.1	DETERMINATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE (DFG) PAR DES MARQUEURS ENDOGENES : LA CREATININE	35
5.3.1.1	Méthode directe	36
5.3.1.2	Méthodes indirectes : Estimation de la clairance de la créatinine	36
5.3.1.2.1	La formule de Cockcroft et Gault	36
5.3.1.2.2	Modification of Diet in Renal Disease (MDRD)	37
5.3.1.2.3	La formule CKD-Epi	38
5.4	DETERMINATION DE LA FONCTION RENALE PAR LES MARQUEURS EXOGENES	38
5.4.1	METHODES DE REFERENCE	39
5.4.1.1	Clairances de l'inuline	39
5.4.1.1.1	Dosage de l'inuline	39
5.4.1.1.2	Clairance urinaire de l'inuline	40
5.4.1.1.3	Clairance plasmatique de l'inuline après perfusion continue	41
5.4.1.1.4	Clairance plasmatique de l'inuline après injection intraveineuse unique	41
5.4.1.2	Clairances de produits radio-marqués	41

5.4.1.3	Clairances de produits de contraste iodés	42
5.4.1.3.1	L'iohexol	42
5.4.1.3.1.1	Dosage de l'iohexol	45
5.4.1.3.1.2	Comparaison des méthodes de mesure du débit de filtration glomérulaire par l'iohexol et l'inuline	46
5.4.1.3.1.3	L'innocuité de l'iohexol	46
5.4.1.3.2	L'iothalamate	46

6 VALIDATION D'UNE METHODE D'ANALYSE 47

6.1	LINEARITE D'UNE METHODE D'ANALYSE	50
6.1.1	DEFINITION	50
6.2	ETUDE DE LA JUSTESSE	50
6.2.1	DEFINITION	50
6.2.2	PROTOCOL	51
6.3	ETUDE DE LA FIDELITE (PRECISION)	52
6.3.1	DEFINITION	52
6.3.2	PROTOCOL	53
6.3.2.1	Répétabilité intra-jour	53
6.4	EXACTITUDE	53
6.4.1	LE PROFIL DE L'EXACTITUDE	53
6.4.1.1	Définition	53

Partie II : Expérimentale

7 MATERIELS ET METHODES 55

7.1	MATERIELS	55
7.1.1	TYPE D'ETUDE	55
7.1.2	CHOIX DE LA POPULATION	55
7.1.3	APPAREILLAGES POUR DOSAGE DE L'IOHEXOL	57
7.1.3.1	Appareil HPLC	57
7.1.3.2	Colonne	57
7.1.3.3	Centrifugeuse	57
7.1.3.4	Vortex	57
7.1.3.5	Microcentrifugeuse	58
7.1.3.6	Balance de précision	58
7.1.3.7	Hotte	58
7.1.3.8	PHmètre + Agitateur magnétique	58
7.1.3.9	Agitateur Magnétique	58
7.1.3.10	Multiple agitateur	58
7.1.3.11	Bain marie	58
7.1.4	REACTIFS POUR LE DOSAGE DE L'IOHEXOL	58

7.1.4.1	Acide Métaphosphorique(MPA)	58
7.1.4.2	Di potassium Hydrogéo Phosphate (K₂HPO₄)	58
7.1.4.3	Acide formique (AF)	59
7.1.4.4	Acétate d'Ammonium	59
7.1.4.5	Acétonitrile	59
7.1.4.6	Methanol	59
7.1.5	A PREPARER LE JOUR DE LA MANIPULATION	59
7.1.5.1	Acide Métaphosphorique	59
7.1.5.2	Tampon K₂HPO₄ 10Mm	59
7.1.5.3	Phase mobile	60
7.1.5.3.1	Phase B	60
7.1.5.3.2	Phases de rinçage	60
7.1.5.3.2.1	Phase C	60
7.1.5.3.2.2	Phase A	61
7.1.5.4	Calibrants et contrôles	61
7.1.5.4.1	Calibrants	62
7.1.5.4.2	Contrôles internes	63
7.1.6	DOSAGE DE LA CREATININE	64
7.1.6.1	La méthode colorimétrique : Jaffé cinétique : Traçable en IDMS	64
7.1.6.2	La méthode enzymatique : Traçable IDMS	65
7.2	METHODES	65
7.2.1	INJECTION DE L'IOHEXOL	66
7.2.1.1	Etape initiale	66
7.2.1.2	Injection de l'iohexol	66
7.2.2	DOSAGE DE L'IOHEXOL	67
7.2.2.1	Le principe de la chromatographie	67
7.2.2.2	Procédure de préparation des échantillons pour le dosage de l'iohexol :	68
7.2.2.3	Réalisation du dosage	70
7.2.2.4	Lecture et compilation des résultats	71
7.2.2.5	Rinçage de la boucle d'injection et de la colonne	71
7.2.3	DOSAGE DE LA CREATININE	71
7.2.4	LA METHODE ENZYMATIQUE	72
7.2.5	LA METHODE CINETIQUE	72
7.3	LES METHODES DE DETERMINATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE	73
7.3.1	DETERMINATION DU DFG MESURE (DFGM) PAR CLAIRANCE PLASMATIQUE DE L'IOHEXOL :	73
7.3.2	ETAPES DE DOSAGE ET DU CALCUL DU DFG PAR LA CLAIRANCE DE L'IOHEXOL	73
7.3.3	ESTIMATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE (DFG)	78
7.4	METHODE DE VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE DE L'IOHEXOL	78
7.4.1	IDENTIFICATION DU PIC DE L'IOHEXOL	78
7.4.2	ETUDE DE LA LINEARITE DE LA METHODE DE DOSAGE DE L'IOHEXOL	82
7.4.3	ETUDE DE LA JUSTESSE	82
7.4.4	ETUDES DE LA FIDELITE EGALEMENT APPELEE PRECISION)	82
7.5	ANALYSE STATISTIQUE	83

Partie III : Résultats et Commentaires

8 RESULTATS DE LA MESURE DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE DFGM PAR LA CLAIRANCE DE L'IOHEXOL 86

8.1 DISTRIBUTION DES VALEURS DE DFG MESURE 86

9 RESULTATS DE DOSAGE DE LA CREATININE 87

9.1.1 LES RESULTATS DE LA CREATININE PAR LES DEUX METHODES 87

9.1.2 LES RESULTATS DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE ESTIME 90

10 LES RESULTATS DE LA VALIDATION DU DOSAGE DE L'IOHEXOL 94

10.1 RESULTATS DE LINEARITE 94

10.2 RESULTATS DE LA JUSTESSE 100

10.2.1 RECOUVREMENT ET RECOUVREMENT MOYEN 100

10.2.2 BIAIS ABSOLU ET BIAIS RELATIF 103

10.3 RESULTATS DE LA FIDELITE 106

10.3.1 REPETABILITE INTRA-JOUR 106

10.3.2 REPETABILITE INTER-JOUR 110

10.4 LE PROFIL D'EXACTITUDE DE LA METHODE DE DOSAGE DE L'IOHEXOL DANS LE PLASMA PAR HPLC. 111

10.5 PERFORMANCE DE LA METHODE DE DOSAGE DE L'IOHEXOL PAR HPLC 112

10.6 RESULTATS DU CONTROLE INTERNE 114

11 COMPARAISON ENTRE DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE MESURE (DFGM) ET LE DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE ESTIME (DFGE) PAR LES TROIS METHODES UTILISANT DEUX TYPES DE DOSAGE DE LA CREATININE 114

11.1 DFGM VS MDRD ENZ. 117

11.2 DFGM VS MDRD CIN. 118

11.3 DFGM VS CKD-EPI ENZ. 120

11.4 DFGM VS CKD-EPI CIN. 121

11.5 DFGM VS COCKCROFT ENZ. 124

11.6 DFGM VS COCKCROFT CIN.	125
11.7 FACTEURS POUVANT INFLUENCER LE DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE	127
11.7.1 L'INDICE DE MASSE CORPOREL	127
11.7.1.1 BMI supérieur à 25 Kg/m²	127
11.7.1.1.1 DFGm vs MDRD Enz.	129
11.7.1.1.2 DFGm vs MDRD Cin.	130
11.7.1.1.3 DFGm vs CKD-Epi Enz.	132
11.7.1.1.4 DFGm vs CKD-Epi Cin.	133
11.7.1.1.5 DFGm vs Cockcroft Enz.	135
11.7.1.1.6 DFGm vs Cockcroft Cin.	136
11.7.1.2 BMI < à 25 Kg/m²	138
11.7.1.2.1 DFGm vs MDRD Enz.	139
11.7.1.2.2 DFGm vs MDRD Cin.	140
11.7.1.2.3 DFGm vs CKD-Epi Enz.	142
11.7.1.2.4 DFGm vs CKD-Epi Cin.	143
11.7.1.2.5 DFGm vs Cockcroft Enz.	145
11.7.1.2.6 DFGm vs Cockcroft Cin.	146
11.7.2 NIVEAU DE FONCTION RENALE	148
11.7.2.1 DFGm supérieur à 100ml/mn/1,73m²	148
11.7.2.1.1 DFGm vs MDRD Enz.	149
11.7.2.1.2 DFGm vs MDRD Cin.	150
11.7.2.1.3 DFGm vs CKD-Epi Enz.	152
11.7.2.1.4 DFGm vs CKD-Epi Cin.	153
11.7.2.1.5 DFGm vs Cockcroft Enz.	155
11.7.2.1.6 DFGm vs Cockcroft Cin.	156
11.7.2.2 DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m²	158
11.7.2.2.1 DFGm vs MDRD Enz.	159
11.7.2.2.2 DFGm vs MDRD Cin.	160
11.7.2.2.3 DFGm vs CKD-Epi Enz.	162
11.7.2.2.4 DFGm vs CKD-Epi Cin.	163
11.7.2.2.5 DFGm vs Cockcroft Enz.	165
11.7.2.2.6 DFGm vs Cockcroft Cin.	166
11.7.2.3 DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m²	168
11.7.2.3.1 DFGm vs MDRD Enz.	169
11.7.2.3.2 DFGm vs MDRD Cin.	170
11.7.2.3.3 DFGm vs CKD-Epi Enz.	171
11.7.2.3.4 DFGm vs CKD-Epi Cin.	172
11.7.2.3.5 DFGm vs Cockcroft Enz.	173
11.7.2.3.6 DFGm vs Cockcroft Cin.	174
11.7.3 FACTEUR ETHNIQUE	174
11.7.3.1 Facteur ethnique appliqués la formule MDRD :	174
11.7.3.2 Facteurs ethniques appliqués à la formule CKD-Epi :	176

Partie IV : Discussion

12 INTRODUCTION 178

12.1 LE CHOIX DE LA METHODE	178
12.2 VALIDATION DU DOSAGE DE L'IOHEXOL	180
12.2.1 LA LINEARITE	181
12.2.2 LA JUSTESSE	181
12.2.3 LA FIDELITE (PRECISION)	182
12.3 LE DOSAGE DE LA CREATININE	182
12.4 ETUDE DES PERFORMANCES DES METHODES D'ESTIMATION DU DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE (DFG)	185
12.5 ETUDE DES FACTEURS SPECIFIQUES	191
12.5.1 INDICE DE MASSE CORPOREL (BMI)	192
12.5.1.1 Sous population avec BMI supérieur à 25 Kg/m ²	192
12.5.1.2 Sous population avec BMI inférieur à 25 Kg/m ²	193
12.5.2 LE FACTEUR ETHNIQUE	195

13 CONCLUSION 199

14 PERSPECTIVE 201

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 202

LISTE DES ANNEXES 217

LISTE DES TABLEAUX

Tableau numéro	Titre	Page
1	Ce tableau donne les valeurs de l'aire sous la courbe pour chaque concentration.	81
2	Caractéristique de la population étudiée, présentation des résultats : Moyenne ± Ecart-type.	86
3	Concentration de la créatinine par les deux méthodes dans l'ensemble de la population.	88
4	Régression linéaire entre créatinine enzymatique et créatinine cinétique avec un coefficient de régression $r^2 = 0,91$	89/90
5	Montre les résultats du débit de filtration glomérulaire estimé par les trois méthodes d'estimation utilisant les deux techniques de dosage de la créatinine. La technique de dosage de la créatinine ne modifie pas le résultat du DFG estimé pour les trois méthodes	92
6	Résultats comparatifs du débit de filtration glomérulaire estimé les trois méthodes. Aucune différence n'est observée avec les méthodes MDRD et CKD-Epi aussi bien avec la créatinine dosée par la technique enzymatique que cinétique. Par contre la différence est nette avec ces deux méthodes comparée avec la méthode de Cockcroft-Gault.	93-94
7	Représente les Concentrations calculées de l'Iohexol dans la gamme étalons à J1, J2 et J3	94
8	Concentration calculées moyennes des trois jours.	96
9	Tableau 10 : Représente les résultats de l'analyse statistique des analyses réalisées sur trois jours consécutifs. Le test de Fisher retrouve un facteur $F = 3774,1$ supérieur à la valeur critique de F . p value à très significative à 2.10^{-20} On peut dire que le modèle de régression est linéaire et prédictif dans l'intervalle de confiance à 95%	96
10	Représente les résultats de l'analyse statistique des analyses réalisées sur trois jours consécutifs. Le test de Fisher retrouve un facteur $F = 3774,1$ supérieur à la valeur critique de F . p value à très significative à 2.10^{-20} On peut dire que le modèle de régression est linéaire et prédictif dans l'intervalle de confiance à 95%	198
11	représente le coefficient directeur de la droite d'étalonnage ici égal à 1 et l'erreur type correspondant à l'écart-type qui servira à calculer la LDM et la LQM.	98
12	Représente le Recouvrement qui se trouve dans les fourchettes de validités sauf pour le concentration 16,4 $\mu\text{mol/ml}$	100,101, 102
13	Représente le biais absolu et relatif	103,104, 105
14	Représente la répétabilité intra-jour de la concentration calculée des six solutions de l'Iohexol 300mg/ml d'iode de la gamme de calibration utilisée pour la courbe d'étalonnage.	106,107, 108,109

15	Représente les résultats statistiques par analyse de variance à un facteur	109
16	Représente la répétabilité de de la concentration calculée des six gammes de calibration de l'iohexol d'Iode réalisées sur trois jours.	110
17	Représente les résultats statistiques de l'analyse de variance de la concentration calculée.	110
18	Représente les Performances analytiques de de la technique de dosage de l'iohexol par la méthode de Krutzen (1)	112,113
19	Représente les résultats du Contrôle interne du dosage de l'iohexol.	114
20	Présente les résultats du biais moyen et l'exactitude à 10% (P10) et l'exactitude à 30% (P30) entre le DFGm et les différentes méthodes d'estimation (MDRD, CKD-Epi et Cockcroft) avec la créatinine mesurée par la technique enzymatique et cinétique de la population étudiée.	116
21	Comparaison du DFGm VS MDRD Enz. par le test t de Student, montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 0,03.	117
22	Comparaison du DFGm VS MDRD Cin. par le test t de Student, montre une différence significative entre les deux méthodes, une P value à 0,01.	118
23	Comparaison du DFGm VS CKD-Epi Enz., le test t de Student, qui montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 0,02.	120/121
24	Comparaison du DFGm VS CKD-Epi Cin., le test t de Student qui montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 0,008.	121
25	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., le test t de Student, qui montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 3.10^{-8}.	124
26	Comparaison du DFGm VS CKD- Cockcroft Cin., par le test t de Student qui montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 7.10^{-9}.	125
27	Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et à 30% (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la sous population avec BMI supérieur à 25 Kg/m².	128
28	Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² ne montre aucune différence une p value à 0,62.	129
29	Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² avec une p value à 0,2.	130
30	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² ne montre aucune différence avec une p value à 0,4.	132
31	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² ne montre aucune différence avec une p value à 0,2.	133
32	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² montre différence très significative avec une p value à 0,00002.	135

33	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m ² montre différence très significative avec une p value à 0,000004.	136
34	Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et à 30% (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la sous population avec BMI inférieur à 25 Kg/m ² .	138
35	Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m ² montre une différence significative avec une p value à 0,004.	139
36	Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m ² montre une différence significative avec une p value à 0,01.	140
37	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m ² montre une différence significative avec une et p value à 0,004.	142
38	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m ² montre une différence significative avec une p value à 0,008.	143
39	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m ² montre une différence significative avec une p value à 0,0003.	145
40	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m ² montre une différence significative avec une p value à 0,0002.	146
41	Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la sous population avec un DFGm supérieur à 100ml/mn/1,71m ² .	148
42	Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m ² ne montre pas une différence avec une p value à 0,9.	149
43	Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m ² ne montre pas de différence avec une p value à 0,9	150
44	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m ² ne montre pas une différence avec une p value à 0,1.	152
45	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m ² ne montre pas de différence avec une p value à 0,1.	153
46	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m ² montre une différence significative avec une p value à 1,6.10 ⁻⁸ .	155
47	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m ² montre une différence significative avec une p value à 5,6.10 ⁻⁹ .	156
48	Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la	158

	sous population avec un DFGm entre 60 et 100ml/mn/1,71m ² .	
49	Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par le test t de Student le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m ² montre une différence significative avec une p value à 0,0004.	159
50	Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m ² montre une différence significative avec une p value à 0,0001.	160
51	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m ² montre une différence significative avec un facteur F supérieur à la valeur critique de F et p value à 2,2. 10 ⁻⁷	162
52	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m ² montre une différence significative avec une p value à 1,7.10 ⁻⁸ .	163
53	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m ² montre une différence significative avec une p value à 1,6. 10 ⁻¹⁰ .	165
54	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin., par test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m ² montre une différence significative avec une p value à 5,6. 10 ⁻⁹	166
55	Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la sous population avec un DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,71m ² .	168
56	Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m ² ne montre de différence significative avec une p value à 0,8.	169
57	Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m ² ne montre de différence significative avec un facteur F inférieur à la valeur critique de F et p value à 0,9	170
58	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m ² ne montre pas de différence significative avec une et p value à 0,8.	171
59	Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m ² ne montre pas de différence significative avec une et p value à 0,5. Tableau 60 : Tableau 61 :	172
60	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m ² montre une différence significative avec une p value à 0,04.	173

61	Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 0,02.	174
62	Présente les résultats du biais moyen et l'exactitude à 10% (P10) et l'exactitude à 30% (P30) entre le DFGm et la méthode MDRD avec la créatinine mesurée par la technique enzymatique et cinétique de la population étudiée avec les facteurs de correction liés aux différentes ethnies, chinoise, japonaise, thaïlandaise et noire américaine.	175
63	Présente les résultats du biais moyen et l'exactitude à 10% (P10) et l'exactitude à 30% (P30) entre le DFGm et la méthode CKD-Epi avec la créatinine mesurée par la technique enzymatique et cinétique de la population étudiée avec les facteurs de correction liés aux ethnies, afro-américaine facteur 1,21 et afro-européenne facteur 1,08.	176
64	Comparatif de la linéarité entre le travail personnel et celui d'E. Cavalier	181

LISTE DES FIGURES

Figure numéro	Titre	Page
1	Coupe longitudinale du rein	17
2	Structure schématique d'un néphron	18
3	Coupe détaillée d'un glomérule	19
4	Déterminants hémodynamiques de la filtration glomérulaire	22
5	Principe de la chromatographie liquide à haute performances	68
6	Tracé 1 : Dit blanc contenant que le sérum d'un sujet sain sans Iohexol	79
7	Tracé 2 : Tracé du même sérum auquel on a rajouté de l'Iohexol à la concentration de 525,5 µmol/ml	79
8	Tracé 3 : Littérature	79
9	Aires sous la courbe et les amplitudes des pics d'absorbance avec la gamme étalons aux différentes concentrations.	80
10	Cette courbe d'étalonnage est en fait une droite de type : $y = ax + b$	81
11	Distribution du DFGm dans la population d'étude	87
12	Distribution de la créatinine enzymatique dans la population étudiée	88
13	Distribution de la créatinine cinétique dans la population étudiée	88
14	Courbe d'évolution de la créatinine Jaffé cinétique et Jaffé cinétique \pm DS par rapport à la créatinine enzymatique, il existe une corrélation parfaite entre les deux types de dosage avec un $R^2 = 0,911$	89
15	Distribution du débit de filtration glomérulaire estime par la formule MDRD Enzymatique	90
16	Distribution du débit de filtration glomérulaire estime par la formule MDRD Cinétique	91
17	Distribution du débit de filtration glomérulaire estime par la formule CKD-Epi Enzymatique	91
18	Distribution du débit de filtration glomérulaire estime par la formule CKD-Epi Cinétique	92
19	Représente la courbe d'étalonnage pour les trois jours consécutifs	95
20	Représente la comparaison des trois courbes d'étalonnage de l'Iohexol dans le sérum dans le	95

	domaine de concentration allant de 16,4 - 32,8 - .65,65 – 131,3 – 262,6 et 525,25 µmo/ml	
21	Courbe moyenne d'étalonnage de l'iohexol dans du sérum	97
22	Représentation graphique des résidus	99
23	Graphique des recouvrements	102
24	Profil exactitude : recouvrement des six gammes étalons de l'iohexol	111
25	Régression linéaire du DFGm VS MDRD, qui montre une surestimation du DFG de $10,8 \pm 34,58$ ml/mn/1,73m ² pour le MDRD enzymatique et une surestimation du DFG de $12 \pm 35,2$ ml/mn/1,73m ² pour le MDRD cinétique	119
26	Concordance entre DFGm et MDRD (enzymatique et cinétique) évaluée par la méthode Bland-Altman représentant la distribution des valeurs autour du du biais dans un intervalle de confiance de 95%	120
27	Régression linéaire du DFGm VS CKD-Epi, montre une sur-stimation du DFG de $9,72 \pm 20,21$ ml/mn/1,73m ² pour le CKD-Epi enzymatique et une surestimation de $10,86 \pm 25,15$ ml/mn/1,73m ² pour le CKD-Epi cinétique	122
28	Concordance entre DFGm et CKD-Epi (enzymatique et cinétique) évaluée par la méthode Bland-Altman représentant la distribution des valeurs autour du du biais dans un intervalle de confiance de 95%	123
29	Régression linéaire du DFGm VS Cockcroft, montre une surestimation du DFG de $35,53 \pm 45,40$ ml/mn/1,73m ² pour le Cockcroft Enzymatique et $37,61 \pm 46,40$ ml/mn/1,73m ² pour le Cockcroft cinétique	126
30	Concordance entre DFGm et Cockcroft (enzymatique et cinétique) évaluée par la méthode Bland-Altman représentant la distribution des valeurs autour du du biais dans un intervalle de confiance de 95%	127
31	Régression linéaire du DFGm vs MDRD Enz., et Cin., il n'y a pas de différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI supérieur à 25 Kg/m ² avec les deux techniques de dosage de la créatinine	131

32	Régression linéaire du DFGm vs CKD-Epi Enz., et Cin., il n'y a pas de différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI supérieur à 25 Kg/m ² avec les deux techniques de dosage de la créatinine	134
33	Régression linéaire du DFGm vs Cockcroft Enz., et Cin., montre une différence très significative avec une surestimation de de 38 et 45 ml/mn/ 1,73 m ² respectivement entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI supérieur à 25 Kg/m ² avec les deux techniques 1de dosage de la créatinine	137
34	Régression linéaire du DFGm vs MDRD Enz., et Cin., il y'a une différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI Inférieur à 25 Kg/m ² . La surestimation est de 22 ml/mn/1,73m ² avec la technique enzymatique et 16 ml/mn/1,73m ² avec la technique cinétique de dosage de la créatinine	141
35	Régression linéaire du DFGm vs CKD-Epi Enz., et Cin., il y'a une différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI Inférieur à 25 Kg/m ² . La surestimation est de 15ml/mn/1,73m ² avec les deux techniques de dosage de la créatinine	144
36	Régression linéaire du DFGm vs Cockcroft Enz., et Cin., il y'a une différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI Inférieur à 25 Kg/m ² . La surestimation est de 33,5 ml/mn/1,73m ² avec la technique enzymatique et 28,6 ml/mn/1,73m ² avec la technique cinétique de dosage de la créatinine	147
37	Régression linéaire du DFGm vs MDRD Enz., et Cin., il n'y'a pas de différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100ml/mn/1,73m ² , avec les deux techniques de dosage de la créatinine	151
38	Régression linéaire du DFGm vs CKD-Epi Enz., et Cin., il n'y'a pas de différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100ml/mn/1,73m ² , avec les deux techniques de dosage de la créatinine	154

39	Régression linéaire du DFGm vs Cockcroft Enz., et Cin., il y'a une différence significative entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100ml/mn/1,73m ² , avec les deux techniques de dosage de la créatinine. La surestimation est de -27,0±41,2 et 29,0±44,4 respectivement	157
40	Régression linéaire du DFGm vs MDRD Enz., et Cin., il y'a une différence significative entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100ml/mn/1,73m ² , avec les deux techniques de dosage de la créatinine	161
41	Régression linéaire du DFGm vs CKD-Epi Enz., et Cin., il y'a une différence significative entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100ml/mn/1,73m ² , avec les deux techniques de dosage de la créatinine	164
42	Régression linéaire du DFGm vs Cockcroft Enz., et Cin., il y'a une différence significative entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100ml/mn/1,73m ² , avec les deux techniques de dosage de la créatinine	167
43	Représente un spectre spectrométrique de masse de la créatinine marquée et la créatinine de l'échantillon d'un patient.	183
44	Clairance plasmatique : modélisation bi-compartimentale	28
45	Le schéma de la justesse, fidélité et exactitude.	51

ABREVIATIONS UTILISEES

ADH : Antidiurétique hormone

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

AVP : Vasopressine

ASC : Aire Sous la Courbe

CG: Cockcroft-Gault

Cr51: Chrome 51

⁵¹Cr-EDTA : Etylen Diamin Tetra acetic Acid marqué au Chrome 51

CKD-Epi: Chronic Kidney Disease Epidemiology

CL : Clairance

COFRAC : Comité français d'accréditation

Da : Dalton

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

DTPA : Di éthylène-triamine-penta-acétique

eDFG : Débit de Filtration Glomérulaire estimé

EPO : Erythropoïétine

FAN : Facteur atrial natriurétique

FDA : Foods and drugs Association

GC-IDMS : Dilution Isotopique associée à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

IDMS: Isotopic Dilution Mass Spectrometry

ICH: L'International Conferences Harmonisation

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

IMC: Indice de Masse corporelle

IRC/T : Insuffisance rénale chronique/terminale

JCTLM: Joint commitee for Traceability in Laboratory Midecine

KK: Kinine kallibréine

K-DIGO: Kidney Disease Improving Global Outcome

LC-IDMS : Dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

LEC: Liquide Extra-Cellulaire

MRC : Maladie rénale chronique

MDRD: Modication of Diet in Renal Disease

NKF-QDOQI: National Kidney Fondation-Kidney Disease outcome Quality Initiative

PcB: pression hydrostatique capsule de Bowman

Pcg: Pression hydrostatique capillaire

Πcg : Pression oncotique capillaire glomérulaire

PEF: Pression efficace d'ultrafiltration

PENIA: Particle Enhanced Nephrometric Immuno Assay

PETIA: Particle Enhanced Turbidimetric Immuno Assay

PG: Prostaglandine

ROC: Receiver Operating Characterestic

SDAM : Symetric Dimethyl Arginine

SFSTP : La société française des sciences et techniques pharmaceutiques

SMDI : Spectrométrie de Masse avec Dilution Isotopique

SRA : Système rénine angiotensine

Tc : Technétium

$^{99m}\text{Tc-DTPA}$: Diethylen Triamin Penta Acetic Acid Marqué au Technétium
99m

TCD : Tube contourné distal

TCP : Tube contourné proximal

XRF : Fluorescence des rayons X

1 Introduction :

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) est un outil qui permet de quantifier la filtration rénale. Il est considéré comme le reflet de la fonction globale du rein, sur des constatations bien établies en physiologie rénale et la participation de filtration glomérulaire dans l'équilibre du milieu intérieur. Ce rôle intervient sur l'adaptation du processus de réabsorption et de sécrétion par le bier du rétrocontrôle tubulo-glomérulaire et la balance glomérulo-tubulaire. La filtration glomérulaire est intimement liée à certaines fonctions endocriniennes du rein. Ainsi la baisse de la production du calcitriol (Reichel)(2) et de la fabrication de l'érythropoïétine Mc Clellan(3) par le rein se voient à des stades très précoce de la diminution du DFG.

La mesure du DFG en pratique médicale revêt un intérêt capital, d'abord diagnostique, sa mesure permet de détecter l'insuffisance rénale et de permettre sa classification KDIGO 2012.(4)

L'insuffisance rénale chronique est clairement reconnue comme un facteur de morbi-mortalité cardio-vasculaire(5,6). Reconnaître l'IRC permet de prévenir ces complications.

L'initiation du traitement par les méthodes de suppléance est décidée par la mesure du DFG.(7)

D'autres intérêts sont attribués à la quantification du DFG, la mesure du DFG permet d'adapter la posologie des médicaments à élimination rénale essentiellement en oncologie en fonction de filtration glomérulaire.

La mesure du DFG dans le bilan d'évaluation du fonctionnement rénale avant un prélèvement pour don d'organe doit faire partie du bilan en utilisant les méthodes de référence de préférence.

La mesure directe du débit de filtration glomérulaire (DFG) fait appel à des substances exogènes et dont la réalisation se fait en milieu hospitalier, ces méthodes sont très précises mais elles sont de réalisation compliquée dans le dépistage de routine.

La deuxième méthode est la mesure de ce même débit par des méthodes indirectes dites méthodes d'estimation, ce sont des formules développées par les américains pour les plus utilisées à partir des populations

américaines, ce sont des formules qui prennent en considération plusieurs facteurs dont l'âge, le sexe et l'ethnie.

Ces formules ont l'avantage d'être facile d'utilisation au dépend de la précision qui est moindre.

Les comités d'experts américains (NKF-KDOQI : National kidney foundation – Kidney disease outcome quality initiative) et internationaux (KDIGO : Kidney disease improving global outcome) ont émis des recommandations visant à réduire les complications associées à l'insuffisance rénale chronique, ainsi que leurs coûts.

Pour mieux dépister l'insuffisance rénale, ces experts recommandent l'estimation systématique du débit de filtration glomérulaire (DFG) chez l'adulte avec des méthodes prédictives d'estimation du débit de filtration glomérulaire que sont : l'équation MDRD (*Modification of diet in renal disease*) ou l'équation de Cockcroft-Gault (C-G) et l'équation CKD-Epi (chronic kidney disease-Epidemiology). Les laboratoires d'analyse sont incités à fournir spontanément l'estimation du DFG (eDFG) pour chaque créatinine sérique mesurée(4,8)

Ils recommandent également, la standardisation du dosage de la créatinine par rapport à une méthode de dosage de référence représentée par la méthode de dosage basée sur la spectrométrie de masse avec dilution isotopique (SM-DI). Cette méthode de mesure est considérée comme solide, sensible, extrêmement spécifique, reproductible et transférable, c'est-à-dire que la valeur obtenue avec cette méthode doit être identique dans tous les laboratoires du monde contrairement aux méthodes de dosage colorimétriques et les méthodes de dosage enzymatiques qui présentent de nombreuses interférences, responsables de variations considérables d'un laboratoire à un autre.

De même, cette standardisation devrait améliorer les performances des équations d'estimation de la fonction rénale.

Ces recommandations visent à uniformiser la définition et la classification de la maladie rénale chronique ainsi que l'insuffisance rénale chronique. (Annexe 4)

2 Les objectifs du travail :

La présente étude vise trois objectifs :

2.1 Objectif principal :

- -Evaluer les performances des méthodes prédictives d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à la méthode de référence qu'est la mesure du débit de filtration glomérulaire par l'iohexol dans la population algérienne générale.

2.2 Objectifs secondaires :

- Introduire la méthode de mesure directe du débit de filtration glomérulaire en Algérie par la mesure du débit de filtration glomérulaire par la clairance plasmatique de l'iohexol.

Pour atteindre ces objectifs nous avons adopté la démarche suivante :

- Dans un premier chapitre, nous avons présenté à travers une revue bibliographique, la physiologie rénale et les méthodes de détermination du débit de filtration glomérulaire.
- Dans un second chapitre a été développée notre étude expérimentale en décrivant d'abord la méthodologie adoptée ; ensuite les résultats obtenus ont été exposés et discutés avant de conclure.

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

3 RAPPELS ANATOMIQUES DU REIN

3.1 Macroscopie : Le rein(9,10)

Le rein est un organe pair en forme de haricot localisé dans la région lombaire supérieure, en position rétro péritonéale. Chaque rein possède à sa face interne, une ouverture dénommée hile rénal. Les deux reins sont chacun surmontés d'une glande surrénale.

La structure interne du rein est constituée de 2 zones distinctes (figure 1) :

La médullaire est formée par des cônes appelés les pyramides de Malpighi dont l'extrémité interne dénommée papille, fait saillie dans les calices et dont la base externe jouxte le cortex périphérique.

La médullaire comprend 2 parties ; la médullaire externe voisine du cortex et la médullaire interne qui forme la papille.

Le cortex coiffe la base des pyramides de Malpighi et s'insinue entre les pyramides constituant les colonnes de Bertin.

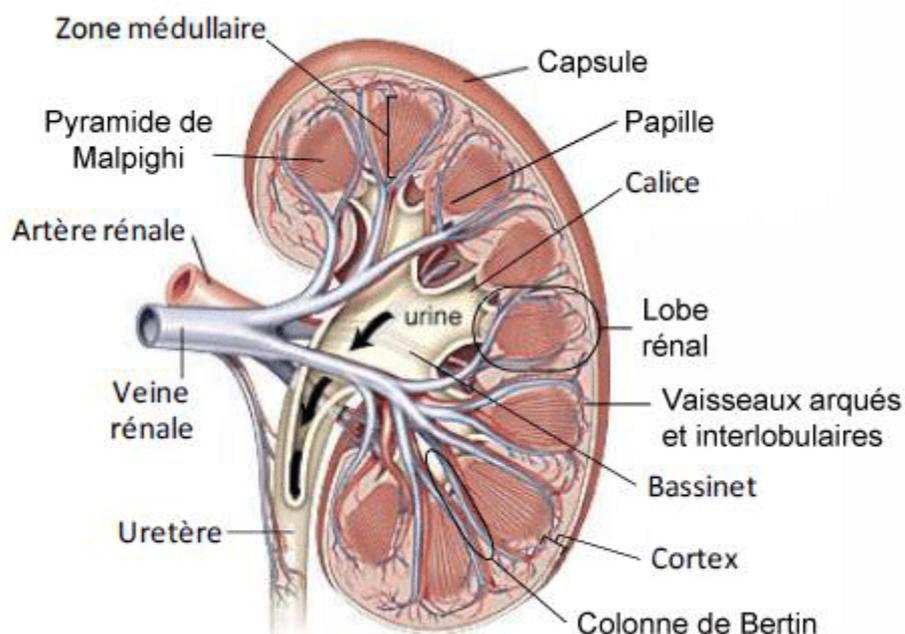


Figure 1 : Coupe longitudinale du rein (modifié depuis M. Keck, 2012)(11)

La vascularisation rénale est organisée comme suit ;
Au repos, les grosses artères rénales acheminent aux reins $\approx 1/4$ du débit cardiaque total (environ 1200 ml de sang/ min).

L'ordre d'enchaînement des différents types **artériels** pour chaque **rein** est le suivant : artère rénale → artères segmentaires → artères interlobaires → artères arquées → artères interlobulaires → artérioles afférentes → capillaires glomérulaire → Artérioles efférentes → capillaires de l'interstitium (vasa recta).

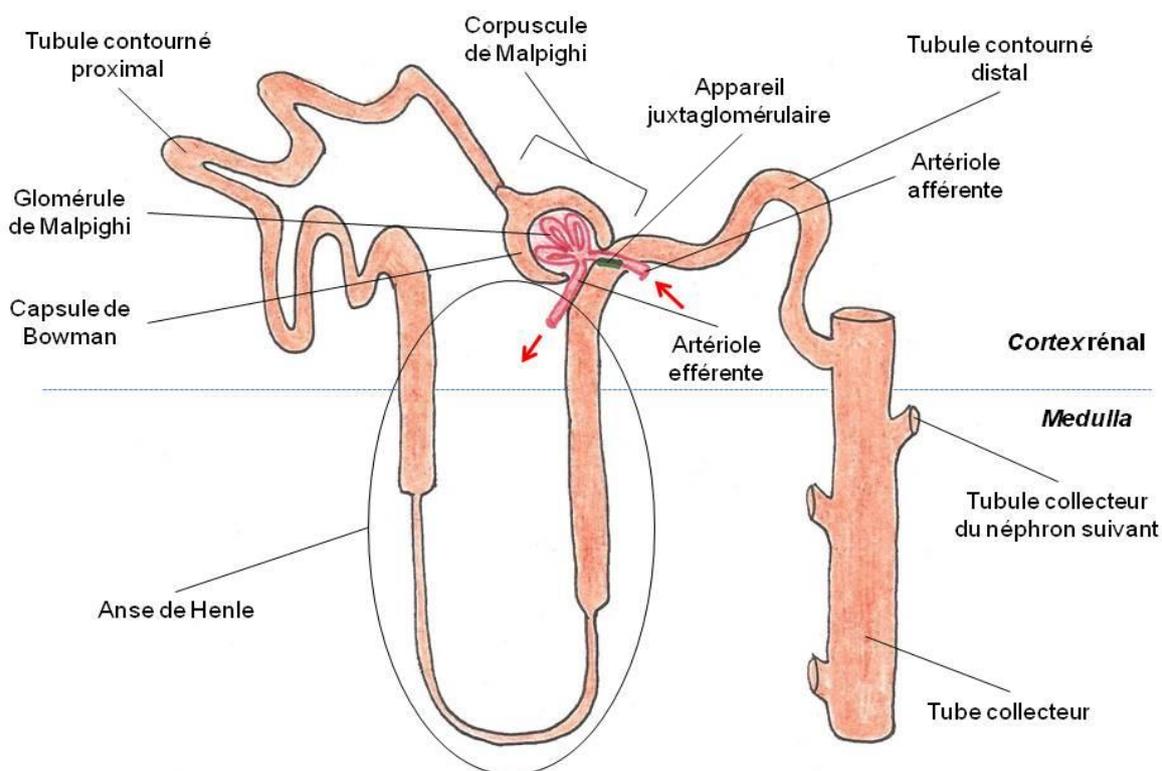
L'ordre d'enchaînement des différents types **veineux** pour chaque **rein** est le suivant : artérioles efférentes → capillaires péri-tubulaires et vasa recta → veines interlobulaires → veines arquées → veines interlobaires → veine rénale.

3.2 Microscopie : le néphron

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Chaque rein comporte au moins un million (1 000 000) de néphrons.

Chaque néphron comporte deux grandes parties (figure 2) :

- le corpuscule rénale ou corpuscule de Malpighi
- le tubule rénal



Fernandes, A., 2016

Figure 2 : Structure schématique d'un néphron (12)

• Le corpuscule rénal correspond au segment initial du néphron, au niveau duquel s'effectue la filtration plasmatique qui permet la formation d'urine primitive. Il est constitué :

- de la capsule de Bowman (ou capsule glomérulaire rénale)
- du glomérule (ou glomérule de Malpighi) qui correspond à un bouquet de capillaires artériels maintenus par un tissu lâche, le mésangium. L'endothélium des capillaires glomérulaires est fenêtré permettant le passage de grandes quantités de liquides et de solutés (mais une imperméabilité aux macromolécules supérieures à 68 K daltons).

Deux pôles peuvent donc être distingués dans le corpuscule de Malpighi (figure 3) :

- un pôle vasculaire : au niveau de la zone d'entrée de l'artère afférente et de sortie de l'artère efférente.
- un pôle urinaire à l'opposé du pôle vasculaire, où s'insère le tube contourné proximal.

L'appareil juxta-glomérulaire est la zone comprenant l'artériole afférente dans sa portion pré glomérulaire entourée du mésangium extra glomérulaire, l'artériole efférente, la macula densa (partie intégrante du tube contourné distal) de nombreuses terminaisons nerveuses orthosympathiques.

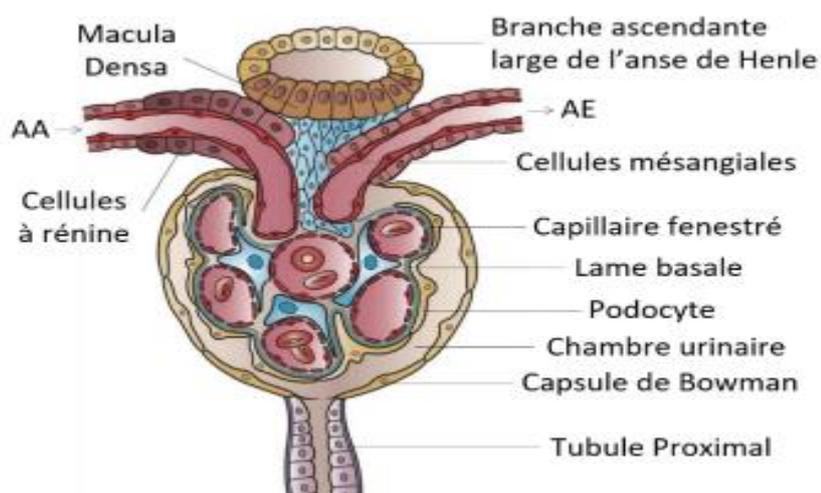


Figure 3 : Coupe détaillée d'un glomérule (13)

Le tubule rénal est constitué de 3 parties :

- le tubule contourné proximal (TCP) où débouche la capsule de Bowman,
- l'anse de Henlé,
- le tubule contourné distal (TCD) qui se jette dans un tubule rénal collecteur de Bellini.

4 Aspects physiologiques du rein

4.1 Les fonctions du rein (14–16)

Les reins assurent aussi bien une fonction endocrine qu'une fonction exocrine.

4.1.1 Fonction endocrine

Le rein assure une fonction endocrine et est le site de formation de plusieurs hormones :

- l'érythropoïétine (Epo)
- la forme active de la vitamine D
- la rénine partie du Système Rénine Angiotensine
- la prostaglandine et le système kinine kallikréine. La sécrétion d'érythropoïétine (Epo) stimule la production des hématies par la moelle osseuse. L'activation de la vitamine D intervient dans la croissance ; la sécrétion de rénine intervient dans la régulation de la pression artérielle.

4.1.2 Fonction exocrine

Le rein a pour fonction essentielle la formation de l'urine avec élimination des déchets et le maintien de l'équilibre ionique.

La formation de l'urine passe par deux étapes successives :

4.1.2.1 La filtration glomérulaire :

La filtration glomérulaire réalise un transfert par ultrafiltration d'une grande quantité de liquide plasmatique dépourvue de protéine de haut poids moléculaire depuis le compartiment capillaire des glomérules vers leur espace urinaire. L'ultrafiltrat obtenu constitue l'urine primitive.

4.1.2.2 Les ajustements tubulaires :

Les ajustements tubulaires se font par des transferts bidirectionnels qui s'effectuent tout le long du tube urinifère sur l'urine primitive et déterminent la composition de l'urine finalement excrétée. Ces transferts passifs ou actifs s'effectuent dans 2 sens :

- De la lumière tubulaire vers le tissu interstitiel et les capillaires péri-tubulaires : ces transferts sont appelés réabsorption.
- Des capillaires péri tubulaires vers la lumière tubulaire. Ces transferts sont appelés sécrétion.

Chez l'homme les phénomènes de réabsorption sont nettement plus importants que les phénomènes de sécrétion.

Nous ne détaillerons dans la suite, que la filtration glomérulaire.

4.1.3 La filtration glomérulaire(12)

4.1.3.1 Définition :

La filtration glomérulaire correspond à un transfert unidirectionnel par ultra filtration des capillaires vers la chambre urinaire aboutissant à la formation d'un ultrafiltrat constituant l'urine primitive. La surface et la perméabilité du filtre glomérulaire déterminent l'amplitude et la qualité du transfert.

Le débit de filtration glomérulaire est en moyenne situé entre 100 et 120 ml/min et de ce fait le volume filtré par 24 h est considérable, de l'ordre de 180 l/24h.

L'urine primitive a une composition ionique identique à celle du plasma quasiment dépourvu de protéine et sans macromolécule. Le transfert glomérulaire est un processus passif d'ultrafiltration. La pression de filtration est la résultante algébrique des pressions hydrostatiques et oncotiques qui s'exercent de part et d'autre du filtre glomérulaire. La force motrice principale de ce transfert résulte de l'activité cardiaque.

4.1.3.2 Forces impliquées :

Les forces impliquées dans cette filtration comportent :

- Des forces favorisant la filtration :

*La pression hydrostatique capillaire (P_{cg}) est de l'ordre de 50 mm Hg.

*La pression oncotique de la capsule de Bowman (Π_{cB}) voisine de 0 mm Hg compte tenu de l'absence de protéine dans la chambre urinaire.

- Des forces s'opposant à la filtration :

*La pression hydrostatique de la capsule de Bowman (P_{cB}) de l'ordre de 10 mm Hg.

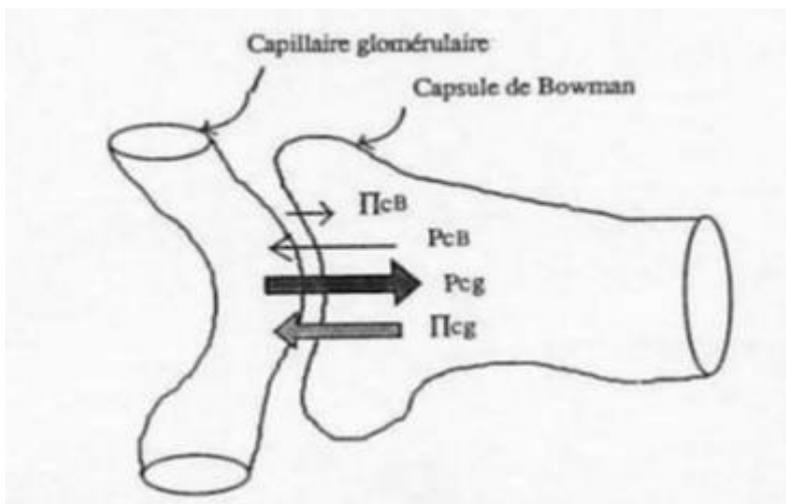
*La pression oncotique des capillaires glomérulaires Π_{cg} de l'ordre de 30 mm Hg.

La pression efficace de filtration (PEF) est donc la résultante :

$$PEF = (P_{cg} + \Pi_{cB}) - (P_{cB} + \Pi_{cg})$$

Π_{cB} étant voisine de zéro :

$$PEF = P_{cg} - (P_{cB} + \Pi_{cg})$$



Les déterminants hémodynamiques de la filtration glomérulaire : pression hydrostatique dans le capillaire (P_{cg}) et dans la capsule de Bowman (P_{cB}), pression oncotique dans le capillaire glomérulaire (Π_{cg}) et la capsule de Bowman (Π_{cB}).

Figure 4 : Déterminants hémodynamiques de la filtration glomérulaire

4.1.3.3 Régulation : (17)

On distingue 2 niveaux de régulation du débit sanguin rénal et de la filtration glomérulaire :

- une régulation intrinsèque avec une autorégulation et une régulation hormonale

- une régulation extrinsèque de nature nerveuse sympathique et hormonale extra rénale.

4.1.3.3.1 Régulation intrinsèque

4.1.3.3.1.1 Autorégulation :

L'autorégulation répond à deux mécanismes que sont le tonus myogénique (phénomène physique de contraction artériolaire afférente en réponse à de pression) et la balance tubulo-glomérulaire (phénomène biologique conduisant à la contraction de l'artériole afférente lorsque le débit de Na⁺ dans le tubule augmente.

4.1.3.3.1.2 Systèmes hormonaux :

Le rein synthétise plusieurs substances vaso-actives exerçant leurs effets sur la vascularisation intra rénale :

- le système rénine angiotensine (SRA) intra rénal ;
- le système des prostaglandines (PG) ;
- le système kinine kallicréine (KK).

4.1.3.3.1.3 Système rénine angiotensine intra rénal

La rénine est synthétisée par les cellules granulaires de l'artériole afférente, libérée dans l'interstitium permettant la formation d'angiotensine I convertie en angiotensine II en présence de l'enzyme de conversion. La circulation rénale est donc influencée par l'angiotensine circulante et par l'angiotensine II produite dans le parenchyme rénal. L'angiotensine II est un vasoconstricteur puissant agissant à 3 niveaux dans le parenchyme rénal :

- L'angiotensine agit préférentiellement au niveau de l'artériole efférente. Elle entraîne une vasoconstriction de l'artériole efférente provoquant une chute du débit sanguin glomérulaire avec une augmentation de la pression hydrostatique capillaire glomérulaire et une augmentation de la fraction de filtration.
- L'angiotensine II provoque également une contraction des cellules mésangiales glomérulaires qui comportent des récepteurs spécifiques entraînant une baisse du coefficient de filtration glomérulaire (Kf).

- L'angiotensine II a un rôle tonique vasoconstricteur sur la circulation médullaire grâce à la présence de nombreux récepteurs spécifiques de l'angiotensine dans la zone profonde de la médullaire externe.

4.1.3.3.1.4 Système des prostaglandines

Les prostaglandines sont synthétisées dans le cortex et la médullaire à partir de l'acide arachidonique par la voie de la cyclo-oxygénase :

- Prostaglandine E2
- Prostaglandine D2
- Prostaglandine I2 (prostacycline)
- Prostaglandine F2a
- La thromboxane A2

Les prostaglandines E2, D2, I2 sont vasodilatatrices (responsables d'une augmentation du débit sanguin glomérulaire et d'une augmentation du débit de filtration glomérulaire) ; la thromboxane A2 est vasoconstrictrice synthétisée à l'état normal en faible quantité ; la prostacycline F2a n'a pas de propriété vasomotrice importante.

4.1.3.3.1.5 Système Kinine – kallibréine (KK)

La kallibréine rénale synthétisée par les cellules tubulaires distales agit sur la kininogène pour aboutir à la formation de la bradykinine.

Les kinines sont vasodilatatrices, elles entraînent une augmentation du débit sanguin glomérulaire sans augmentation du débit de filtration glomérulaire, en raison d'une diminution du coefficient de perméabilité Kf par effet direct sur des récepteurs glomérulaires spécifiques ou par le biais du système rénine angiotensine (SRA).

4.1.3.3.2 Régulation extrinsèque

4.1.3.3.2.1 Système nerveux sympathique

L'innervation rénale est exclusivement sympathique principalement noradrénergique mais également à un moindre degré dopaminergique.

Les effets vasoconstricteurs de la noradrénaline entraînent :

- une augmentation des résistances vasculaires rénales ;

- une diminution du débit sanguin rénal et du débit de filtration glomérulaire.

La stimulation des fibres dopaminergiques induit une vasodilatation artériolaire glomérulaire.

4.1.3.3.2.2 Hormones extra rénales

4.1.3.3.2.2.1 Hormone anti-diurétique (ADH) ou vasopressine (AVP)

L'hormone antidiurétique a des effets vasopresseurs d'où sa dénomination de vasopressine. La perfusion intra veineuse à forte dose d'AVP entraîne une élévation de la pression artérielle systémique, une augmentation des résistances vasculaires rénales et une diminution du débit sanguin rénal.

4.1.3.3.2.2.2 Facteur atrial natriurétique (FAN)

Le facteur atrial natriurétique est synthétisé et stocké par les myocytes auriculaires sous la forme d'un précurseur.

Les effets du FAN sur l'hémodynamique rénale et la filtration glomérulaire sont dissociés ; il entraîne augmentation du débit de filtration glomérulaire sans augmentation significative du débit sanguin.

5 Méthodes d'évaluation du débit de filtration glomérulaire (DFG)

5.1 Marqueur idéal du débit de filtration glomérulaire (DFG) :

5.1.1 Notion de clairance (18) :

La clairance (Cl) d'une substance X donnée est définie comme le volume de plasma qui contenait cette substance totalement épurée de celle-ci par unité de temps. Pour une substance X d'élimination rénale, la clairance est définie par le rapport suivant :

$$Cl_x = U_x \times V / P_x$$

Cl_x est la clairance rénale de la substance X (exprimée en ml/min),

U_x et P_x les concentrations urinaires et plasmatiques la substance X (en mg/l) et V le débit urinaire en (ml/min).

L'excrétion rénale d'une substance X correspond à la somme de la filtration glomérulaire et de la sécrétion tubulaire diminuée de sa réabsorption tubulaire.

Pour une substance qui filtre librement à travers les glomérules et qui ne subit aucun transfert tubulaire (ni sécrétion ni réabsorption), son excrétion rénale ($U_x \times V$) ne dépend que du débit glomérulaire et de sa concentration plasmatique :

$$U_x \times V = DFG \times P_x$$

Pour une telle substance, la clairance rénale est égale au DFG :

$$DFG = U_x \times V/P_x = Cl_x$$

Par conséquent, un marqueur idéal de la filtration glomérulaire doit être une substance libre non liée aux protéines, éliminée exclusivement par le rein filtrée librement à travers la membrane glomérulaire sans subir de sécrétion ni de réabsorption au niveau tubulaire, non métabolisée et ne modifiant pas le DFG.

Les méthodes de mesure de la fonction rénale se différencient en fonction du type de clairance (urinaire ou plasmatique), du type de marqueur exogène utilisé (inuline, marqueurs isotopiques, produits de contraste iodés), ou endogène (créatine, et cystatine C) du type d'injection intraveineuse (bolus unique ou perfusion continue).

5.1.2 Les différents types de clairances : clairance urinaire ou plasmatique :

Le DFG peut être déterminé par deux types de clairances dépendantes des types de prélèvements effectués et utilisés pour les calculs. On distingue donc les clairances rénales (ou urinaires) où sont prélevés des échantillons d'urine et de sang et les clairances plasmatiques où est (sont) prélevé (s) un (ou plusieurs) échantillon (s) de sang.

5.1.2.1 Clairance urinaire :

La technique de clairance urinaire a été introduite par Rehberg et al. En 1926(19). Le calcul du DFG s'effectue à partir de la mesure de la concentration du marqueur dans le plasma et de celle dans les urines selon la formule UV/P . La clairance urinaire est en fait la moyenne des clairances calculées sur plusieurs périodes (de 30 minutes environ). Les

prélèvements débutent après un délai qui correspond à la période de distribution du traceur dans l'organisme.

5.1.2.2 Clairances plasmatiques :

Elles ne nécessitent par définition aucun prélèvement urinaire. Après l'injection intraveineuse d'un marqueur, sa concentration évolue en deux phases : une phase de décroissance rapide qui correspond à la distribution du marqueur dans l'organisme puis une phase décroissance plus lente qui correspond à son élimination par filtration glomérulaire.

La clairance plasmatique d'un marqueur est calculée par le rapport de la dose du marqueur injectée et l'aire sous la courbe (ASC) de décroissance du marqueur dans le plasma. Cette courbe est établie à partir de prélèvements sanguins échelonnés dans le temps. Le calcul de l'ASC de décroissance fait appel à divers modèles mathématiques de pharmacocinétique qui comportent un, deux ou trois compartiments. Le choix du modèle pharmacocinétique dépend de la biodisponibilité du marqueur utilisé. A noter qu'en cas de clairance plasmatique, il est particulièrement important d'avoir recours à un marqueur n'ayant pas (ou très peu) de clairance extrarénale.

5.1.3 Modèles pharmacocinétiques de mesure de l'aire sous la courbe

5.1.3.1 Modèle à un compartiment (monocompartimental)

Dans ce modèle, le marqueur est injecté dans un seul compartiment (le plasma) et est éliminé sans échange avec d'autres compartiments. La concentration $c(t)$ du marqueur à un temps 't' donné dans ce compartiment après la fin de l'injection est égale à :

$$c(t) = I_1 e^{-b_1 t}$$

Où

I_1 : l'intercepte de la courbe sur l'axe des ordonnées (ce qui correspond à la concentration théorique du marqueur dans le compartiment à la fin de l'injection)

b_1 : le débit constant d'élimination.

L'intégrale de cette fonction correspond à l'aire sous la courbe (ASC)

$$ASC = I_1 / b_1$$

Dans ce modèle monocompartimental, le calcul de l'ASC ne tient donc pas compte de la première composante de distribution (les prélèvements sanguins sont effectués après un intervalle de temps suffisant pour s'affranchir de cette première composante de distribution) et est donc sous-estimé. La clairance plasmatique et le DFG (dose injectée/ASC) s'en trouvent donc surestimés et certains auteurs dont Bröchner Mortensen ont appliqué des facteurs de correction pour corriger cette surestimation.

5.1.3.2 Modèle à deux compartiments (bi-compartimental)

Dans ce modèle, immédiatement après l'injection, le marqueur se distribue entre un compartiment central (le plasma) et un compartiment périphérique extracellulaire. L'élimination du marqueur se fait à partir du compartiment plasmatique. La concentration dans ce modèle est décrite comme la somme de deux fonctions exponentielles avec deux niveaux constants d'élimination distincts (b_1 et b_2) et deux interceptes différents (I_1 et I_2) :

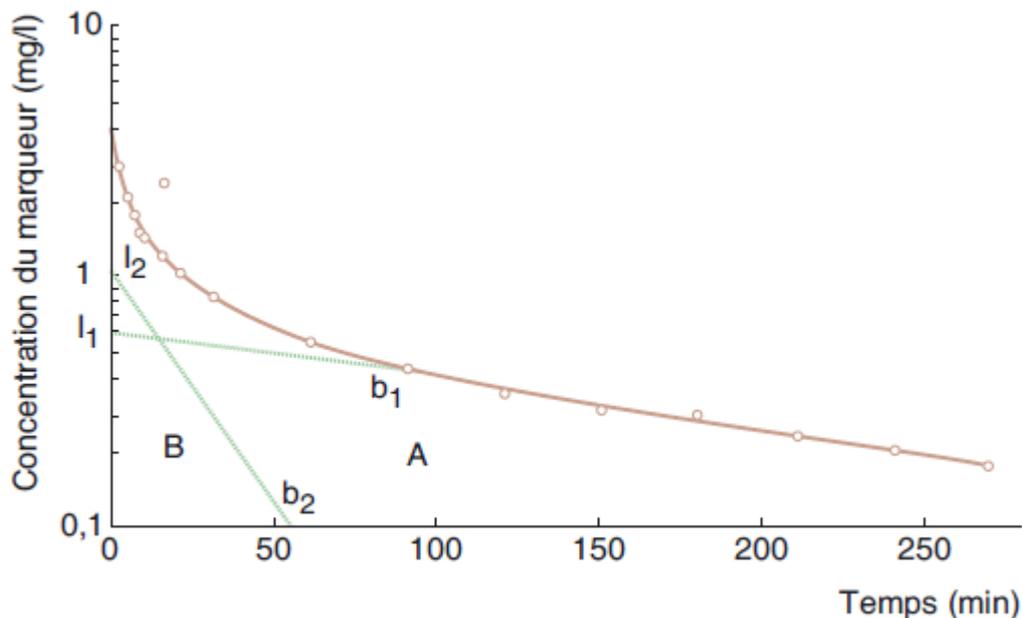


Figure 44 : Clairance plasmatique : modélisation bi-compartimentale

$$ASC = \frac{I_1}{b_1} + \frac{I_2}{b_2} ; \quad DFG = \frac{Dose}{ASC}$$

$$C(t) = I_1 e^{-b_1 t} + I_2 e^{-b_2 t}$$

L'ASC devient : $I_1/b_1 + I_2/b_2$ et le DFG correspond au rapport de la dose injectée sur l'ASC.

5.1.3.3 Modèle à trois compartiments

Dans ce modèle, le marqueur se distribue entre le compartiment plasmatique et l'espace extracellulaire mais aussi entre l'espace extracellulaire et des compartiments plus profonds (tendons, tissu sous-cutané). L'élimination du marqueur se fait seulement à partir du plasma. Dans ce cas, la concentration du marqueur est décrite mathématiquement par la somme de trois fonctions exponentielles qui comportent trois niveaux constants d'élimination distincts (b_1 , b_2 et b_3) et trois interceptes différents (I_1 , I_2 et I_3) :

$$C(t) = I_1 e^{-b_1 t} + I_2 e^{-b_2 t} + I_3 e^{-b_3 t}$$

L'ASC devient $I_1/b_1 + I_2/b_2 + I_3/b_3$ et le DFG le rapport de la dose injectée sur l'ASC.

Que ce soit dans le modèle à un ou à plusieurs compartiments, plus le nombre et la durée des prélèvements sont grands et plus la méthode s'avère précise, notamment pour la mesure des DFG les plus bas.

5.1.3.4 Modèle pharmacocinétique simplifiés

Il s'agit de modèles mathématiques permettant d'estimer l'ASC à partir d'un nombre limité de prélèvements. Alors que, dans un modèle bi-compartimental classique, la décroissance plasmatique du marqueur est habituellement décrite par deux courbes exponentielles, obtenues par, au minimum, quatre prélèvements (par exemple, à 10 et 30 minutes pour la première composante (décroissance rapide) et 120 et 300 minutes pour la deuxième composante (décroissance lente). La clairance plasmatique peut être calculée seulement à partir de la courbe de décroissance plasmatique lente (modèle à un compartiment) corrigée ultérieurement par différentes méthodes mathématiques (méthode de Bröchner-Mortensen, méthode de Chantler (20,21)). Dans ce cas, deux prélèvements peuvent être suffisants : le premier prélevé classiquement 120 minutes après l'injection pour éviter une éventuelle participation de la composante rapide de décroissance plasmatique, le second prélevé à 300 minutes ou plus tard en cas d'insuffisance rénale sévère.

5.1.3.5 Equation correctrice de Brochner-Mortensen (20)

Cette méthode est appliquée lors de l'utilisation du modèle monocompartimental qui assimile la courbe de décroissance plasmatique à une droite en coordonnées semi logarithmiques, en négligeant la phase

initiale de distribution du traceur. Ce modèle permet l'estimation de l'ASC avec seulement 2 ou 3 prélèvements tardifs. L'estimation du DFG avec ce modèle peut être améliorée chez l'homme par l'emploi de la formule de correction de Bröchner-Mortensen (Bröchner-Mortensen 1972) afin de compenser la phase de distribution.

Cette formule de correction s'applique comme suit :

$$\text{Clp (corrigée)} = 0,990778 \times \text{Clp (mesurée)} - 0,001218 \times \text{Clp (mesurée)}$$

Clp : clairance plasmatique

5.2 Les différents marqueurs du débit de filtration glomérulaire (DFG) :

Le marqueur endogène qui se rapproche de ces caractéristiques définies pour la mesure du DFG est la créatinine, un autre marqueur endogène est proposé pour l'évaluation de la filtration glomérulaire qui est la cystatine C, qui reste au stade de validation, est utilisé qu'en recherches cliniques.

L'inuline, l'iohexol, ¹²⁵I iothalamate, ^{99m}Tc-DTPA et ⁵¹Cr-EDTA) sont les marqueurs exogènes les plus utilisés en clinique, les méthodes utilisant ces marqueurs sont considérées comme des méthodes de référence.

5.2.1 Les marqueurs endogènes :

5.2.1.1 La créatinine :

A ce jour, la créatinine reste le marqueur endogène le plus utilisé pour évaluer la fonction rénale en particulier la fonction glomérulaire mais son emploi reste problématique pour des raisons physiologiques mais aussi analytiques ; la créatinine est loin d'être un marqueur idéal du débit de filtration glomérulaire, son taux dépend de la masse musculaire.

Le dosage de la créatinine est basé sur des méthodes colorimétrique utilisant la méthode de Jaffé dont la spécificité pour la créatinine reste limitée.

Ces deux inconvénients sont responsables de variation du taux de créatinine sans modification du débit de filtration glomérulaire.

5.2.1.1.1 Les problèmes liés aux difficultés analytiques

La créatinine peut être mesurée dans le sang et dans les urines par deux grandes méthodes : d'une part, la méthode de Jaffé dite colorimétrique et, d'autre part, les méthodes enzymatiques.

5.2.1.1.1.1 Méthodes basée sur la réaction de Jaffé :

C'est en 1886, que Jaffé décrit la réaction qui portera son nom entre la créatinine et l'acide picrique qui, en milieu alcalin donne une coloration rouge-orange (22).

La présence de quantité mesurable de créatinine dans les urines sera confirmée par plusieurs auteurs. En 1905, Folin est le premier à quantifier par colorimétrie la créatinine dans les urines. La détection puis la quantification de la créatinine dans le sang seront décrites plus tardivement (23,24).

L'inconvénient majeur de cette méthode est son manque de spécificité puisque l'acide picrique ne réagit pas uniquement avec la créatinine mais avec d'autres composés appelées les pseudo-chromogènes et élèver faussement le taux de créatinine. Une liste de 38 composés susceptible d'interférer avec la réaction de Jaffé (25–27) est établie parmi lesquels, il y a les protéines, acide pyruvique et l'acéto-acétate etc...

La concentration exacte de ces pseudo-chromogènes n'est pas prédictibles pour un sujet donné mais leurs concentration reste stable (25). L'effet de ces pseudo-chromogènes est d'autant plus important que la concentration de la créatinine se situe dans les valeurs basses.

Les pseudo-chromogènes peuvent représenter entre 15 et 20% de la réaction globale pour une créatinine située dans les concentrations normales (28).

Toute la difficulté de cette méthode est liée à ces pseudo-chromogènes et la meilleure méthode de dosage de la créatinine est celle qui permet de mesurer uniquement le taux de créatinine et le concept de jaffé compensé a été introduit par Roche diagnostic, qui consiste à soustraire 27 μmol à tous leurs résultats, concentration censée refléter la concentration moyenne des pseudo-chromogènes dans le sang. Cette compensation est purement mathématique et ne reflète pas la concentration « vraie » de pseudo-chromogènes qui peut varier d'un individu à l'autre (de 0 à 44

µmol/L) et n'est absolument pas prédictible(29), un autre concept utilisé actuellement est celui de Jaffé "cinétique" qui semble beaucoup plus fiable pour se débarrasser des pseudo-chromogènes. Son principe est simple, il consiste à faire la lecture de la coloration ni trop tôt pour éliminer l'interférence de l'acéto-acétate, ni trop tard pour éliminer les composés qui interfèrent tardivement avec l'acide picrique comme le glucose et les protéines. Ces méthodes cinétiques permettent de diminuer significativement les interférences(30,31). L'automatisation a permis d'améliorer la précision de ces dosages et le temps nécessaire à leur réalisation par rapport aux méthodes manuelles (30,32). Aujourd'hui, la mesure de la créatinine par la méthode de Jaffé est toujours une méthode cinétique qui s'effectue sur sérum ou plasma non déprotéinisé.

5.2.1.1.1.2 Les méthodes enzymatiques :

Le dosage enzymatique de la créatinine se fait par la méthode de Jaffé avant et après dégradation de la créatinine par des enzymes de souches de bactéries décrites par Dubos et Miller en 1937 et la différence entre les deux dosages représente les pseudo-chromogènes et la concentration de la créatine vraie est alors calculée (33).

Actuellement, la mesure de la créatinine est basée sur une suite de réactions enzymatiques. Deux grandes « familles » de réactions sont possibles. 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(34).

Les méthodes enzymatiques s'avèrent, aujourd'hui, significativement plus précises que les méthodes basées sur la réaction de Jaffé. Les méthodes enzymatiques sont donc les plus recommandées. Elles restent cependant plus coûteuses (environ dix fois plus chères) et ne sont pas, comme nous le verrons, exemptes de toute interférence(35).

5.2.1.1.2 Les problèmes liés aux inconvénients physiologiques :

La créatinine est une substance physiologiquement inerte, dont le poids moléculaire est de 113 daltons, c'est le catabolite anhydrique de la créatine et, dans une moindre mesure de la phospho-créatine. Une fois

synthétisée au niveau du rein, petit intestin, pancréas, cerveau et les glandes mammaires, la créatine est transportée majoritairement au niveau des muscles où sa phosphorylation par la créatine kinase en phosphocréatine donnera un composé à haute valeur énergétique absolument nécessaire au processus de contraction musculaire(36). La créatinine est donc synthétisée à partir de la créatine suite à une réaction irréversible et non enzymatique. Par jour, 1 à 2 % de la créatine musculaire est convertie en créatinine(37). Il apparaît donc évident que la concentration de créatinine est avant tout dépendante de la masse musculaire(28,37).

Les différences pouvant s'observer dans les concentrations de créatinine entre hommes et femmes, entre personnes âgées et jeunes, entre sujets d'ethnies différentes sont donc principalement expliquées, en l'absence de maladie rénale, par les différences de masse musculaire entre ces groupes(28,38).

Vu son poids moléculaire et l'absence de liaison aux protéines, la créatinine est librement filtrée au niveau glomérulaire(28). En situation d'équilibre, la concentration de créatinine est stable chez un même individu car sa production journalière, à partir de la créatine musculaire est constante. En l'absence d'excrétion extrarénale, l'élimination rénale de créatinine reflète cette production (28).

La production de créatinine pourrait logiquement diminuer avec l'âge, mais cette diminution est « compensée » par une diminution physiologique du DFG (28,39). En pédiatrie, les variations de créatinine observées chez les enfants en croissance sont expliquées par le gain en masse musculaire. Ceci est d'ailleurs source de difficultés pour les pédiatres car les valeurs de référence de créatinine chez les enfants varient avec l'âge (25).

Enfin la concentration de la créatinine est également augmentée par l'ingestion de viande trop cuite, en fonction de la température et de la durée de cuisson, une transformation de 18 à 65 % de la créatine de la viande en créatinine qui sera ensuite absorbée au niveau digestif puis excrétée par les reins(37). L'effet d'un repas riche en créatine sur la concentration sérique de créatinine reste très discuté. Il entraînerait une variation de la créatinine de 10 à 100 % selon les auteurs (40,40).

5.2.1.2 La cystatine C : (41,42)

La cystatine C (anciennement appelée gamma-trace ou post-gamma globuline) est un polypeptide non glycosylé, basique (pH à 9,3), composé de 122 acides aminés et dont le poids moléculaire est de 13 359 daltons. Ce peptide, qui appartient à la superfamille des inhibiteurs de la cystéine-protéase, joue un rôle de protection contre les destructions des tissus cellulaires et extracellulaires dues au relargage d'enzymes par les cellules mortes ou malignes.

La cystatine C est produite par toutes les cellules nucléées qui ont été étudiées. Cette production est constante, le gène codant pour la protéine (qui est située sur le chromosome 20) étant un gène de «ménage» (*housekeeping gene*).

Le poids moléculaire et la charge positive de la molécule font qu'elle est librement filtrée au niveau glomérulaire. Elle est ensuite quasiment entièrement réabsorbée et catabolisée au niveau du tube contourné proximal. La concentration de cystatine C dans les urines est très faible (sauf en cas de tubulopathie proximale). La concentration plasmatique de la cystatine C ne semble donc être influencée que par le DFG.

La concentration de la cystatine C est corrélée au DFG mesuré par le ⁵¹Cr-EDTA.

En 1994, la mesure de la cystatine C par la technique PETIA (*particle enhanced turbidimetric immunoassay*) se révélait précise et surtout plus reproductible et rapide (7 minutes). L'automatisation de la méthode permet des dosages répétés et relativement peu coûteux (trois fois le prix d'un dosage de créatinine sérique par la méthode de Jaffé)(43,44).

La cystatine C constitue une alternative à la créatinine pour l'estimation du débit de filtration glomérulaire.

5.2.2 Les marqueurs exogènes :

La détermination du débit de filtration glomérulaire peut faire appel à des marqueurs exogènes en mesurant soit leur clairance plasmatique ou urinaire ou les deux. Les méthodes utilisant ces marqueurs pour la détermination du débit de filtration glomérulaire sont considérées comme des méthodes de références en raison de leurs précisions et leurs fiabilités, ces substances ne sont pas ou faiblement liées aux protéines,

elles sont librement et exclusivement filtrées au niveau rénal, leurs éliminations rénale se fait par filtration glomérulaire, elles ne sont donc ni sécrétées ni réabsorbées ni métabolisée au niveau du rein, leurs volume de distribution est le liquide extracellulaire. Compte tenu de la lourdeur de leurs réalisations, elles restent difficiles à utiliser en pratique courant(18).

Les substances exogènes utilisées se subdivisent en deux grands groupes :(18)

- Les radiopharmaceutiques, tels : ^{51}Cr -EDTA ou acide éthylène diamine tétra-acétique marqué au Cr51, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA ou acide diéthylène triamine penta-acétique marqué au Tc99m et l'iothalamate marqué à l'iode125.
- Les produits de contraste iodés radiologiques : l'iohexol et l'iothalamate.
- Une autre substance qui n'est classée dans aucune des deux catégories citées plus haut qui est la première à être utilisée dans la mesure du débit de filtration glomérulaire est l'Inuline qui a longtemps été considérée comme le gold standard, n'est plus utilisée que radiomarkée en expérimentation animale et ne dispose plus d'autorisation de mise sur le marché (AMM) chez l'homme, en raison des réactions anaphylactiques de certaines préparations (45).

5.3 Les méthodes de détermination du débit de filtration glomérulaire

5.3.1 Détermination du débit de filtration glomérulaire (DFG) par des marqueurs endogènes : la créatinine

La créatinine reste le marqueur endogène le plus utilisé malgré ses inconvénients qui ont été abordés plus haut.

D'autres marqueurs sont actuellement testés en clinique afin d'évaluer leur fiabilité dans la mesure où l'estimation du débit de filtration glomérulaire, ces marqueurs sont la cystatine C. La bêta trace protéine et symetrical dimethylarginine (SDAM) sont des marqueurs nouvellement proposés comme nouveaux marqueurs de la filtration glomérulaire. Néanmoins, aucune donnée n'est disponible à ce jour sur l'estimation de la progression de l'insuffisance rénale avec ces nouveaux marqueurs.

La détermination de la fonction rénale par la créatinine se fait de deux manières ; soit par une mesure direct ou par une estimation à partir de son taux sérique.

5.3.1.1 Méthode directe :

Elle repose sur la clairance de la créatinine avec recueil des urines des 24 heures en utilisant la formule UV/P. Les inconvénients nombreux de cette technique notamment, ceux liés au recueil toujours difficile des urines de 24 heures et la sécrétion tubulaire à partir d'un certain degré d'insuffisance rénale, surestimant ainsi le débit de filtration glomérulaire (DFG) mesuré par la clairance de la créatinine. Tous ces inconvénients ont fait que cette technique est rarement utilisée.

5.3.1.2 Méthodes indirectes : Estimation de la clairance de la créatinine

La relation entre concentration de créatinine et le débit de filtration glomérulaire (DFG) est une hyperbole inverse. Le DFG est donc une fonction de l'inverse du taux de créatinine. Les formules d'estimation intègrent toutes à différents degrés, des facteurs influençant directement la production de créatinine ou des facteurs influençant la masse musculaire (âge, sexe, poids et origine ethnique). Une multitude d'équations ont été développées au fil du temps avec un regain d'activité depuis la publication de l'équation dite "MDRD ". Cette multitude d'équations est le témoin indirect du caractère très approximatif d'une estimation du DFG basée sur les valeurs de concentration sérique de la créatinine.

Les formules d'estimation les plus couramment utilisées chez l'adulte sont les formules de Cockcroft et Gault, MDRD et CKD-Epi **(Annexe 3)**

5.3.1.2.1 La formule de Cockcroft et Gault :

Le développement de cette formule est l'œuvre de Donald W. Cockcroft et M.Henry Gault entre 1972 et 1973. Le premier, médecin résident en médecine interne qui se sous spécialisait aux problèmes d'allergie respiratoire au Royal Victoria hospital, est parti en stage dans le service de néphrologie où il a travaillé avec MH Gault. Là, il a entamé un travail pour étudier la relation qui peut exister entre la créatinine sérique, créatinine urinaire, l'âge et le poids pour pallier aux problèmes rencontrés avec la clairance basée sur la collecte des urines de 24 heures. C'est ainsi

qu'il a étudié les créatinines sériques et urinaires de 505 patients dont il a retenu pour son étude que 249 patients. L'examen de la relation entre l'excrétion de la créatinine rapportée au poids par rapport à l'âge a montré une relation linéaire inverse entre l'excrétion de la créatinine (mg/Kg) et l'âge, c'est à partir de cette constatation que Cockcroft et Gault ont développé cette formule qui est toujours utilisée de nos jours.

Cette formule a été une alternative pour résoudre le problème lié à la collecte des urines de 24 heures et donne un aperçu non pas du DFG mais de la clairance en raison de l'utilisation d'un comparateur basé sur la mesure de la clairance de la créatinine par la collecte des urines de 24 heures.

L'effectif utilisé est constitué essentiellement d'homme, 4% de femmes sont incluses dans l'étude ce qui représente un inconvénient important de cette étude(46).

5.3.1.2.2 Modification of Diet in Renal Disease (MDRD):

L'objectif de cette méthode était de prédire le DFG mesuré par une méthode de référence, elle a concerné les sujets dont le DFG était inférieur à 60 ml/mn. Le choix de cette catégorie de sujets est ciblée pour voir si le régime hypo-protidique prescrit pour ralentir la progression de l'insuffisance rénale était réel et que la baisse de la créatinine était liée à l'amélioration du DFG ou elle est liée uniquement à la baisse de l'apport en protéines (l'apport de protéines sous forme de viande rouge participe à l'augmentation de la créatinine sérique).

L'échantillon de population étudié comprenait 1070 patients sur une totalité des 1628 sujets inclus dans l'étude MDRD au cours de laquelle une détermination du DFG par clairance urinaire de L'iothalamate normalisé à la surface corporelle (rapporté à 1,73 m²) était réalisé. La population était caractérisée par un âge moyen de 50,6ans, un indice de masse corporelle de 28 kg/m², comprenait 60% d'hommes et 12% de noirs. Le DFG moyen était 40 ml/mn/1,73m². La réalisation d'une régression multiple intégrant un grand nombre de variables a permis la dérivation de plusieurs formules de complexité croissante. La formule initialement recommandée prend le nom de MDRD7(47). En 2000, l'équipe de S. Livey publie une nouvelle formule simplifiée dite "abrégée" et qui comprend quatre variables : la créatinine sérique, l'âge, le sexe et

l'origine ethnique Plus récemment, une dernière modification a été réalisée permettant d'utiliser cette formule avec une créatinine sérique standardisée sur la méthode de référence de dosage de créatinine (isotope dilution mass spectrometry ([IDMS])(48). Cette dernière étape est particulièrement importante dans la mesure où la variabilité analytique liée aux différentes méthodes de dosage de créatinine constitue un facteur d'imprécision à la fois substantiel et maîtrisable dans l'estimation du DFG idéalement, les kits de dosage de créatinine doivent être raccordés à la méthode IDMS. Cette version corrigée de la formule MDRD est actuellement la plus utilisée(49,50).

5.3.1.2.3 La formule CKD-Epi :

Très récemment développées pour améliorer les performances prédictives de la formule MDRD pour les débits de filtration glomérulaires (DFG) au-dessus de 60ml/min/1,73m². Elle a été dérivée d'un échantillon plus important de 5504 patients d'âge moyen de 47 ans, d'indice de masse corporelle moyen de 28kg/m², avec 32% de noirs et ayant un DFG moyen de 68ml/min/1,73m². Sur le plan méthodologique, cette équation a été développée par rapport à un DFG mesuré par clairance urinaire de l'iothalamate indexé à la surface corporelle et en utilisant une créatinine standardisée. Le dosage de créatinine des patients de la cohorte de CKD-Epi n'était par contre pas systématiquement réalisé selon une technique enzymatique. Cette formule est plus complexe que les précédentes, mais est supérieure à l'équation MDRD dans la population à DFG élevé(39).

5.4 Détermination de la fonction rénale par les marqueurs exogènes : (18)

La clairance des marqueurs exogènes est déterminée de trois façons différentes :

1) Perfusion continue avec recueil des urines, il s'agit d'une méthode de référence qui présente deux inconvénients, le recueil des urines se fait sur de courtes périodes et nécessite une perfusion continue

2) Perfusion continue sans recueil des urines, au plateau de concentration plasmatique de l'Inuline le débit de perfusion DP égal au débit excrété UV. D'où $C = UV/P = DP/P$. Cette technique est très aléatoire, elle a été abandonnée.

3) Décroissance plasmatique, cette technique se caractérise par la facilité d'exécution mais nécessite en cas d'IRC des prises de sang tardives. Les inconvénients de cette technique sont ; son coût, traceurs radioactifs et surtout l'utilisation de plusieurs méthodes de calcul de la décroissance plasmatique. Elle est inutilisable pour mesurer les variations rapides du DFG.

5.4.1 Méthodes de référence

5.4.1.1 Clairances de l'inuline

L'inuline est un polymère de fructose (polyfructosan) avec un poids moléculaire de 5200 Da, qui est filtré librement au travers du glomérule. C'est une substance physiologiquement inerte, libre et non fixée aux protéines plasmatiques. Elle n'est ni métabolisée, ni sécrétée, ni réabsorbée par le rein et n'altère pas sa fonction. Bien que certains auteurs décrivent l'existence d'une élimination extrarénale(51,52), elle est considérée comme marqueur idéal de filtration glomérulaire et donc comme marqueur de référence pour l'étude du DFG par d'autres marqueurs.

5.4.1.1.1 Dosage de l'inuline

L'inuline est généralement dosée par la méthode colorimétrique à l'antrone : chaque prélèvement est déprotéinisé avec de l'acide trichloroacétique, puis mélangé à la solution antrone (acide sulfurique + antrone + eau désionisé). Cette méthode est basée sur l'hydrolyse de l'inuline en fructose par l'acide sulfurique à chaud puis la condensation du fructose avec l'antrone qui produit une coloration verte mesurée par spectrophotométrie (620 nm). La concentration est déduite à partir d'un courbe étalon obtenu avec des solutions d'inuline de concentrations connues(53). Les inconvénients de cette méthode sont l'usage de produits caustiques et l'existence d'interférences avec des sucres comme le glucose (54).

Une autre méthode, exclusivement enzymatique a été développée. Elle utilise une inulinase (au lieu de l'acide sulfurique) pour hydrolyser l'inuline en fructose. Ensuite une sorbitol déshydrogénase transforme le fructose en sorbitol ; cette conversion consomme du NADH qui est mesurée par spectrophotométrie. Cette méthode donne des résultats équivalents à ceux de la méthode à l'antrone et présente l'avantage de limiter l'interférence avec les autres sucres(52).

Ces deux techniques (biochimiques ou enzymatiques) ont une reproductibilité inférieure à 5 % (55,56).

D'autres auteurs font appel à la chromatographie liquide haute performance (HPLC) pour le dosage du fructose après hydrolyse de l'inuline (57).

5.4.1.1.2 Clairance urinaire de l'inuline

Elle est considérée comme la technique de référence ou gold standard. La technique classique décrite par Smith (58) comprend une injection intraveineuse d'inuline de charge, suivie d'une perfusion continue de façon à atteindre une concentration plasmatique constante en inuline. Après une période d'équilibration d'une heure environ, des échantillons sanguins et urinaires sont prélevés alternativement sur trois périodes de 10 à 20 minutes. Les échantillons urinaires sont prélevés par sondage vésical. Pour chaque période, la clairance urinaire de l'inuline est calculée par la formule UV/P et la clairance finale correspond à la moyenne des clairances de chaque période. Avec cette technique, le DFG chez les hommes et les femmes âgés de 20 à 30 ans en bonne santé a été évalué respectivement à 130 et 120 ml/min rapporté à 1,73 m² de surface corporelle. Le coefficient de variation était de 10 % entre les clairances des différentes périodes d'une même épreuve.

Cette technique évite le problème de l'équilibration entre les différents compartiments puisque l'inuline est régulièrement administrée en perfusion continue. De plus, pour éviter le sondage vésical, les périodes peuvent être plus longues (30 à 60 minutes) mais dans ce cas, il faut assurer une bonne hydratation (soit par voie orale soit par perfusion) pour maintenir un bon niveau de débit urinaire. Pour éviter la perfusion continue, l'inuline peut être administrée en une seule injection intraveineuse ; mais cette méthode apparaît quelque peu moins précise et est, finalement, peu utilisée (59). Comme pour la technique en perfusion continue, des prélèvements sanguins et urinaires sont réalisés après un intervalle de temps correspondant à la première composante de distribution. Dans le calcul, l'influence du temps de passage du marqueur dans le tractus urinaire est habituellement négligeable.

La principale limitation de la technique de clairance urinaire est la difficulté d'obtention de recueils urinaires minutés corrects sans avoir recours au

sondage vésical. En effet, des recueils urinaires incomplets peuvent conduire à des résultats erronés. Pour remédier à ce problème, il est possible d'évaluer le volume d'urine résiduel dans la vessie par ultrasons (type BladderScan®)(60). Le recours à des techniques de clairances plasmatiques permet d'éviter le problème des recueils urinaires.

5.4.1.1.3 Clairance plasmatique de l'inuline après perfusion continue

Earle et Berliner(61) ont été les premiers à introduire cette technique basée sur la mesure de la clairance plasmatique de l'inuline à l'équilibre (concentration plasmatique du marqueur constante) avec volume de distribution saturé durant une perfusion continue plus ou moins longue pouvant couvrir toute une nuit(56). Plusieurs auteurs ont montré que cette technique surestimait le DFG de 5 à 10 ml/min par rapport au DFG déterminé par la technique classique(53,56,59). Vu les contraintes inhérentes à la perfusion continue, cette technique est très peu utilisée.

5.4.1.1.4 Clairance plasmatique de l'inuline après injection intraveineuse unique

Un bolus d'inuline est administré par voie intraveineuse et les échantillons sanguins sont prélevés jusqu'à 240 minutes après l'injection. Cette technique a l'avantage de ne pas nécessiter de perfusion continue et d'être ainsi plus rapidement réalisée. Les concentrations d'inuline mesurées permettent la construction de la courbe de décroissance plasmatique en fonction du temps. La clairance correspond alors au ratio dose injectée/ASC. Les résultats des études comparant cette technique à la technique standard sont contradictoires : certains trouvent une surestimation systématique(62), d'autres montrent une bonne corrélation des résultats obtenus avec ceux de la technique standard de clairance rénale(63,64). Toutefois le nombre de prélèvements est trop important pour qu'elle soit utilisée en pratique courante, surtout chez l'enfant.

5.4.1.2 Clairances de produits radio-marqués

Ce sont des substances marquées par un corps radioactif. Les principaux composés utilisés comme marqueur de la filtration glomérulaire sont : le ⁵¹Cr-acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA), le ^{99m}Tc-diéthylène-triamino-penta-acétate (DTPA) et le ¹²⁵I-iothalamate.

Ces composés sont de faible poids moléculaire par rapport à l'inuline. Ils répondent aux principaux critères de marqueur de filtration glomérulaire : ce sont des substances libres non liées aux protéines plasmatiques ; leur élimination extrarénale semble négligeable.

Les avantages de ces substances sont leur facilité d'administration, ainsi que la simplicité, l'exactitude et la précision de leur mesure. Leurs propriétés pharmacocinétiques permettent d'étudier facilement la courbe de décroissance plasmatique en fonction du temps après injection intraveineuse en bolus. De cette courbe de décroissance plasmatique en fonction du temps, la clairance plasmatique du marqueur est calculée en utilisant des modèles pharmacocinétiques le plus souvent de type bi-compartimental. L'irradiation entraînée par leur injection, même si elle est relativement faible (inférieure à une radiographie des poumons), contre-indique son utilisation chez la femme enceinte (53,56). La seconde limitation d'utilisation est d'ordre réglementaire : En Europe, notamment en Belgique et en France, leur injection doit être réalisée dans un service agréé pour l'utilisation des isotopes in vivo. De plus, les déchets radioactifs nécessitent des circuits d'élimination très spécifiques et onéreux(63)

5.4.1.3 Clairances de produits de contraste iodés

5.4.1.3.1 L'Iohexol :

L'Iohexol utilisé dans l'étude (65)

L'Iohexol est un produit de contraste iodé non ionique, soluble dans l'eau, isotonique au plasma humain, utilisé dans les explorations radiologiques, développé par un radiologue suédois Torsten Almén en 1980. L'expérimentation de ce produit chez l'animal a révélé qu'il possède une toxicité faible. Son utilisation chez l'homme n'a pas entraîné d'effets secondaires et que son excrétion rénale était excellente, très vite, il a été détecté dans cette première étude que l'Iohexol pouvait être un bon marqueur de la filtration glomérulaire par le fait qu'il ne modifie pas le débit de filtration glomérulaire mesuré par $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (un marqueur du DFG)(66) et que son élimination est exclusivement rénale puisque sa clairance extra-rénale était très faible.

D'autres propriétés ont été identifiées par d'autres études confirmant que ce produit était un bon marqueur de la filtration glomérulaire tel son faible poids moléculaire qui est de 821Da, il est distribué dans l'espace

extracellulaire et moins de 2% se lieent aux protéines plasmatiques, cette propriété fait que l'iohexol est librement filtré par le rein, cette caractéristique est primordiale pour un bon marqueur.

Quand il est utilisé à fortes doses en imagerie médicale, il peut avoir des effets néphrotoxiques et conduire à une néphropathie, surtout chez des patients avec insuffisance rénale préexistante. En revanche, quand l'iohexol est utilisé comme marqueur de du DFG, les doses administrées sont beaucoup plus faibles.

Ce produit est considéré actuellement comme un marqueur de référence pour la mesure du débit de filtration glomérulaire au même titre que nombreux aux autres marqueurs tels que l'Inuline, l'Iothalamate, acide éthylène diamine tétra acétique marqué au chrome $^{51}\text{Cr-EDTA}$ et l'acide diéthylène triamine penta acétique marqué par le Technétium 99 ($^{99}\text{Tc-DTPA}$).

La plupart des auteurs valident la mesure du DFG par la clairance plasmatique ou urinaire de l'iohexol par rapport à la clairance de l'inuline(64,67–69). Ainsi, l'étude de Brändström **et al** montre une excellente corrélation entre la clairance plasmatique de l'iohexol et celle du $^{51}\text{Cr-EDTA}$ et une absence de différence entre les deux clairances par l'analyse de Bland-Altman(66).

Ainsi, beaucoup d'auteurs considèrent l'iohexol comme un nouveau marqueur de référence de mesure du DFG.

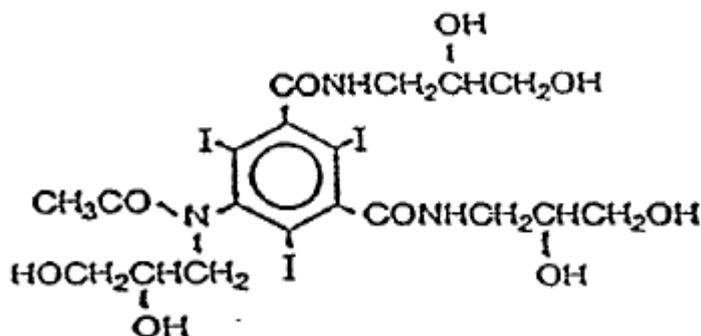
Dénomination commune : Iohexol

Nom chimique : N, N' -Bis (2,3-dihydroxypropyl) -5- N-(2,3-dihydroxypropyl) -acétamido -2, 4,6-triiodoisophthalamide

Formule Moléculaire : $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{I}_3\text{N}_3\text{O}_9$

Poids Moléculaire : 821.14 (Teneur en Iode 46.36%)

Formule développée :



Aspect physique : Iohexol est une poudre inodore d'une couleur blanche à blanc cassé

Solubilité : Iohexol est très soluble dans l'eau et le méthanol ; à peu près insoluble ou insoluble dans l'éther et le chloroforme.

Point de fusion : 174 - 180°

Présentation de l'iohexol (Produit par la société General Electric Health (GE)) :

OMNIPAQUE 140 contient 302 mg d'iohexol équivalent à 140 mg d'iode organique par mL

OMNIPAQUE 180 contient 388 mg d'iohexol équivalent à 180 mg d'iode organique par mL ;

OMNIPAQUE 240 contient 518 mg d'iohexol équivalent à 240 mg d'iode organique par mL ;

OMNIPAQUE 300 contient 647 mg d'iohexol équivalent à 300 mg d'iode organique par mL ; produit utilisé dans l'étude

OMNIPAQUE 350 contient 755 mg d'iohexol équivalent à 350 mg d'iode organique par mL.

Chaque millilitre de la solution d'iohexol contient 1.21 mg tromethamine et 0.1 mg édétate de calcium disodique avec un pH ajusté entre 6.8 and 7.7, avec acide hydrochlorique ou hydroxyde de sodium. Toutes les solutions sont stérilisées à l'autoclave et ne contiennent aucun agent de conservation. La solution d'iohexol est sensible à la lumière et doit donc être protégée de l'exposition.

5.4.1.3.1.1 Dosage de l'iohexol :

Différentes méthodes sont utilisées pour le dosage de l'iohexol. High performance liquide chromatographie avec détection par l'ultra-violet (HPLC-UV), X ray fluorescence (XRF) et liquide chromatographie-tandem masse spectrométrie (LC-MS/MS) sont les plus validées.

La HPLC-UV est la première méthode décrite pour la quantification de l'iohexol et la plus utilisée en Europe, cette méthode est sensible, spécifique, reproductible et permet la détection de très faibles concentrations, les prélèvements nécessaires sont de faible quantité.

Le dosage de l'iohexol dans le sérum après déprotéinisation et dans les urines par HPLC est bien validé sur le plan analytique et constitue la technique de référence(70). C'est une technique de dosage très sensible permettant de réduire les doses injectées à 5 ml d'iohexol (300mg/ml).

Les préparations commerciales contiennent deux isomères qui se distribuent dans le corps de la même manière. En pratique, seul le pic principal élué à 5 minutes est utilisé pour déterminer les concentrations plasmatiques de l'iohexol.

La XRF est également décrite comme étant une bonne méthode de dosage de l'iohexol et nécessite une instrumentation spécifique. Très peu d'études comparant les deux méthodes ont été menées mais, il semble que cette méthodes est moins performante que la HPLC-UV en raison d'une sensibilité inférieur.

La LC-MS/MS a été récemment décrite, c'est une méthode plus sensible et plus spécifique mais elle est de réalisation complexe et son coût est élevé comparé à la HPLC-UV.

La concordance entre les méthodes de dosage par HPLC-UV et LC-MS/MS est excellente.

L'iohexol est parfaitement stable aux différentes températures, la température ambiante et les températures de congélation – 20°C et -80°C.

5.4.1.3.1.2 Comparaison des méthodes de mesure du débit de filtration glomérulaire par l'iohexol et l'Inuline

L'Inuline est la première molécule utilisée dans la mesure du débit de filtration glomérulaire (DFG), ses caractéristiques de bon marqueur ont été étudiées expérimentalement et in-vivo par des microponctions. L'Inuline est éliminée exclusivement par filtration glomérulaire, elle ne subit ni réabsorption ni sécrétion tubulaire et sa liaison protéique est presque nulle. De par ces caractéristiques cette molécule est considérée comme un marqueur de référence mais malheureusement son utilisation n'est plus possible pour de nombreuses raisons parmi lesquelles ses nombreux effets secondaires. Les substances qui doivent la remplacer dans la mesure du débit de filtration glomérulaire doivent avoir les mêmes caractéristiques.

La comparaison des mesures du débit de filtration glomérulaire (DFG) par l'iohexol et l'Inuline relève une bonne concordance entre les deux méthodes de même qu'avec les méthodes utilisant ⁵¹Cr-EDTA et l'iothalamate.

5.4.1.3.1.3 L'innocuité de l'iohexol : (71,72)

L'iohexol est utilisé depuis les années quatre-vingts du siècle dernier pour la mesure du débit de filtration glomérulaire en Europe. Son innocuité a été largement étudiée, de nombreuses publications sont disponibles qui démontrent que ce produit n'a entraîné presque aucun effet secondaire grave, il faut dire que les doses utilisées pour la mesure du débit de filtration glomérulaire sont faibles qui sont de l'ordre de 5 ml parfois de 10 ml dans certaines situations particulières comparées aux doses utilisées en explorations radiologiques qui peuvent atteindre les 300ml pour la forme Omnipaque 350.

5.4.1.3.2 L'iothalamate

L'iothalamate est un produit de contraste ionique qui dérive de l'acide tri-iodobenzoïque. Son poids moléculaire est relativement faible (de 636 Da) et il est distribué librement dans le volume extracellulaire(73,74). L'iothalamate est un bon marqueur de la fonction rénale ; c'est un marqueur très utilisé aux États-Unis, notamment dans des essais ayant construit les équations basées sur la créatinine(47) .Il peut être utilisé

marqué par l'¹²⁵I ou dans des méthodes non-isotopiques "froides" ; c'est le seul marqueur qui offre cette double possibilité.

Quand il est marqué, sa période physique est de 60 jours, ce qui permet de différer le dosage. Son dosage peut se réaliser par HPLC, par LCSM, par comptage radioactif ou par électrophorèse(18,75). L'Iothalamate a fait l'objet de nombreuses études notamment en comparaison avec l'inuline. Plusieurs auteurs ont confirmé la bonne performance des clairances urinaires de l'Iothalamate, en particulier chez les patients atteints de maladie rénale chronique(76,77). Toutefois, chez les sujets sains, les résultats sont plus discutables et l'Iothalamate semble surestimer l'inuline(77). Les limitations de ce marqueur résident dans sa clairance extra-rénale non négligeable, la suspicion d'une sécrétion par les tubules rénaux et les risques d'intolérance chez les patients allergiques aux produits de contraste (18,74).

6 Validation d'une méthode d'analyse

La validation d'une méthode d'analyse est une étape obligatoire qui doit être réalisée à la fin de son développement, qui doit être adoptée par tous les laboratoires.

Cette étape est hautement règlementée, en vingt ans, de nombreux guides et recommandations définissant les critères de validation, dont l'évaluation permet de démontrer les performances d'une méthode d'analyse.

Le consensus sur la terminologie utilisée n'est pas encore disponible. La terminologie utilisée dans les différents documents officiels est différente (Hubert Ph 2004)(78)

Les objectifs de la méthode d'analyse est de donner des garanties que chaque mesure réalisée en routine une fois la procédure validée sera suffisamment proche de la vraie valeur inconnue de l'échantillon ou comprise dans une limite acceptable. Au vu de cet objectif deux notions se dégagent :

- ✓ **Suffisamment proche** : signifie par exemple que la mesure réalisée en routine sera moins de x% (x se rapporte à la limite d'acceptation) de sa vraie valeur inconnue.

- ✓ **Garantie** : signifie qu'il est très probable que quelque soit la mesure, elle sera suffisamment proche de la vraie valeur inconnue. Hubert Ph(79)

Approches de définition des critères de validation :

- La société française des sciences et techniques pharmaceutiques (SFSTP) publie un article en 1992 destiné à permettre la validation de procédures d'analyse en vue d'un dépôt de dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM).

Les critères de validation qu'elle émet sont : justesse, fidélité et linéarité. Les plans de préparation des échantillons sont bien décrits. Pour chacun des critères de validation, les formules de calculs statistiques sont données, ainsi que leurs conditions de validité avec les formules de calcul.

En 2003, de nouveaux articles proposant une alternative à la méthode classique de validation des méthodes de dosage ont été publiés par la SFSTP. (Hubert Ph 2003)(79)

- L'International Conferences Harmonisation (ICH) créé en 1990 s'est donné pour mission de réaliser des recommandations pour l'industrie pharmaceutique rédigés sous forme de guides, dans le but d'harmoniser les pratiques.

L'ICH propose une validation des méthodes par la validation des critères suivants : justesse confondue avec l'exactitude, la fidélité, la limite de de quantification, linéarité et l'intervalle de dosage.

Pour le calcul de chacun des critères, il est proposé un nombre minimum d'essai et de séries d'essais pour les échantillons de validation, sans préciser comment préparer ces échantillons rendant le plan de préparation incomplet. (ICH 2005)

- Foods and drugs Association (FDA) associée à l'ICH pour la validation des méthodes de dosage en milieu biologique propose les critères de validation suivants : fidélité, justesse, sélectivité, sensibilité, reproductibilité et stabilité. Elle donne des définitions et recommandation générales, reprend les données de l'ICH.

Dans certaines conditions HPLC par exemple, un petit changement de ratio ou de température, une validation partielle est suggérée par

l'étude de la fidélité et la justesse. Par contre dans le cas d'un changement important de la température, du système de solvant, d'appareillage ou de détecteur, la méthode de dosage doit être revalidée en totalité.

- International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) créée en 1919 par des chimistes de l'industrie et des universitaires, elle participe entre autre au projet d'harmonisation des méthodes de mesure appliquée à la chimie. (IUPAC 2013)
Depuis sa création IUPAC se spécialisait dans les méthodes de validation inter-laboratoires dans le but de valider des méthodes de dosage qui serviront comme méthodes de référence. A partir de 1988 l'IUPAC s'est donné comme objectif de proposer une harmonisation des pratiques et de permettre la comparaison de nouvelles méthodes de dosage par rapport à une méthode de référence. (IUPAC2013)
- Comité français d'accréditation (COFRAC) est en charge de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale. Il publie des guides qui leurs est destiné pour valider leurs méthodes.
- D'autres organismes tels : Eurachem (chimie analytique), Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (supplément alimentaires et botanique) et SANCO (résidus de pesticides dans les aliments ont également contribué à affiner les recommandations

Les critères définis pour la validation par la plus part des organismes de contrôle et d'accréditation sont :

La justesse, la fidélité, la linéarité et la limite de détection et de quantification.

L'exactitude est parfois confondue avec la justesse parfois est défini par l'association de la fidélité et la justesse.

D'autres critères de validation comme la sélectivité et la sensibilité sont également inclus dans le processus de validation (FDA- ICH).

6.1 Linéarité d'une méthode d'analyse :

6.1.1 Définition :

La linéarité d'une méthode d'analyse est définie par sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration en analyte dans l'échantillon Hubert Ph 2003(79).

Sur le plan expérimental, la SFSTP propose cinq séries minimum de trois essais, IUPAC et Eurachem recommandent au moins six concentrations à analyser pendant deux ou trois jours. La FDA et l'AOAC recommandent six à neuf concentrations pendant deux jours.

La linéarité doit être évaluée par :

- L'examen visuel d'une courbe des valeurs du signal analytique tracées en fonction de la concentration de la substance à analyser.
- La détermination de la répartition des résidus de part et d'autre de l'axe des abscisses passant par le zéro, la linéarité dans ce cas est appréciée par la répartition aléatoire.
Les résidus sont les différences obtenus pour chaque dosage avec la moyenne de (n) mesures.
- Le R^2 de la droite d'étalonnage permet d'apprécier la linéarité d'une méthode d'analyse lorsque celui-ci est proche de 1.
- La somme des carrés des résidus.

6.2 Etude de la justesse :

6.2.1 Définition

L'étude de la justesse est requise par tous les guidelines, la définition utilisée dans ce travail est celle recommandée par la STSTP.

La justesse exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur qui est acceptée, soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée.

La mesure de la justesse est généralement exprimée en termes de recouvrement et de biais absolu ou relatif (erreur systématique) Hubert Ph 2003 (79)

La SFSTP, IUPAC, Eurachem et le COFRAC distinguent entre l'exactitude et la justesse, pour ces organismes, l'exactitude exprime de façon concomitante la fidélité et la justesse.

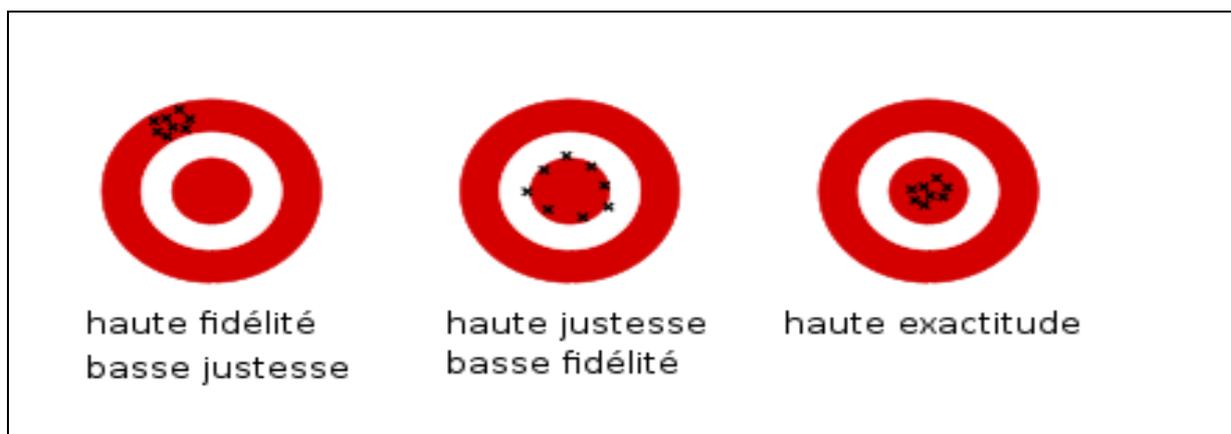


Figure 45 : Le schéma de la justesse, fidélité et exactitude.

6.2.2 Protocol

- ICH recommande trois concentrations et neuf analyses.
- FDA recommande trois concentrations avec trois niveaux couvrant l'écart des concentrations et cinq analyses.
- AOAC recommande neuf à dix niveaux de concentration à réaliser pendant trois jours.

La mesure de la justesse est généralement exprimée en termes de recouvrement et de biais absolu ou relatif (erreur systématique)

Le recouvrement (R%) : par rapport aux concentrations introduites.

$$R(\%)_i = \frac{\mu_i}{X_i} \times 100$$

Le biais : absolu (B), ou relatif (B%)

$$B_i = \mu_i - X_i$$

$$B(\%)_i = \frac{\mu_i - X_i}{X_i} \times 100$$

B_i : Biais absolu.

$B(\%)_i$: Biais relatif.

R (%) : Recouvrement.

X_i : Concentration introduite.

μ_i : Concentration calculée.

6.3 Etude de la fidélité (Précision) :

6.3.1 Définition :

Elle exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion, coefficient de variation) entre une série de mesure provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites (ICH 2005) en accord avec la FDA, SFSTP, AOAC et IUPAC . La fidélité fournit une indication sur les erreurs liées au hasard (erreur aléatoire).

Trois types de fidélité sont généralement estimés à savoir :

- La répétabilité exprime la fidélité de la méthode lorsque celle-ci est reprise dans les mêmes conditions de réalisation après un court intervalle de temps.

- La fidélité intermédiaire correspond aux variations survenant dans le même laboratoire d'analyse effectuées dans des jours différents, par des personnes différentes, aux moyens d'appareils différents.

- La reproductibilité correspond à la concordance entre laboratoires.

L'Eurachem et SANCO recommandent les trois types pour valider une méthode.

La FDA et IUPAC exigent les types 1 et 2

L'AOAC recommande les types 2 et 3

La mesure de la fidélité est calculée à partir de l'écart-type des résultats des essais.

Au plan expérimental :

- Trois niveaux de concentrations sont recommandés par la FDA, ICH.
- IUPAC recommande deux niveaux de concentrations.

- La SFSTP recommande trois séries de six essais.

Un coefficient de variation inférieur à 5% est exigé pour avoir une bonne répétabilité. Hubert Ph 2003(79)

6.3.2 Protocol

6.3.2.1 Répétabilité intra-jour :

La répétabilité des six solutions de calibration de l'iohexol préparée dans le sérum humain a été étudiée. Toutes les solutions ont été soumises à 10 analyses, le même jour.

La moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation ont été déterminés pour chaque concentration de la gamme de calibration.

Moyenne est calculée par la somme des absorbances ou concentrations calculées sur le nombre d'analyse réalisé par concentration.

L'écart-type correspond à la racine carrée de la variance.

La variance est la somme des carrés de $(x_i - \mu)^2/n$

Le coefficient de variation est l'écart-type/ μ X100 exprimé en pourcentage

6.4 Exactitude :

L'exactitude est définie comme étant l'expression de la somme de la justesse et de la fidélité

6.4.1 Le profil de l'exactitude

6.4.1.1 Définition

Le profil d'exactitude est un outil de décision à la fois pratique et visuel. Il repose sur le calcul pour chaque niveau de concentration de l'intervalle de tolérance à partir des estimations disponibles de la justesse et de la fidélité de la procédure après la phase de validation au niveau de la concentration en question.

PARTIE II : EXPERIMENTALE

7 Matériels et méthodes :

7.1 Matériels :

7.1.1 Type d'étude :

Il s'agit d'une étude analytique transversale comparant deux types de méthodes de détermination du débit de filtration glomérulaire, les méthodes indirectes (dites d'estimation) et les méthodes directes (dites de référence)

7.1.2 Choix de la population :

La population étudiée est constituée de sujets adultes âgés entre 18 ans et 70 ans, appartenant à la population générale, comportant des sujets avec insuffisance rénale et des sujets en bonne santé avec une fonction rénale normale.

Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique du centre hospitalier universitaire de Douéra le 11 avril 2019 sous le numéro : 42/RHD/CD/CE/19.

Chaque participant a été informé des détails de l'étude oralement et par la remise d'un document d'information dans les deux langues l'arabe et le français. **(Annexe 1)**

Chaque participant a donné son consentement éclairé pour participer à l'étude et signé une fiche de consentement individuelle. **(Annexe 2)**

L'effectif de l'échantillon de sujets en bonne santé a été déterminé par la formule suivante : $n = (1,96 \times \sigma)^2 / \varepsilon$ ou σ représente l'écart-type, ε = l'erreur, et 1,96 est l'écart réduit pour une espérance à 95%.

En prenant comme référence l'article de Pottel(80) cet effectif est **de 100 sujets** puisque l'écart-type est égal 26,5 et l'erreur choisie est de 25ml/mn/1,73m².

La population de sujets étudiés est composée de 100 sujets adultes dont 60 femmes et 40 hommes, recrutés au niveau des consultations de pré-greffe des services de néphrologie de Batna, de Constantine et de Sétif ainsi que les patients de la consultation de néphrologie et les volontaires parmi le personnel médical et paramédical du service de néphrologie et hémodialyse du CHU de Sétif.

La cohorte a été constituée par le recrutement successif sur deux périodes de décembre 2019 à mars 2020 et de janvier 2021 à Juin 2021. Cette interruption est justifiée par la pandémie du COVID 19.

Pour chaque sujet, les données anthropométriques ont été notées sur une fiche individuelle tel que le nom, le prénom, le sexe, l'âge ainsi que son poids, la taille, la surface corporelle.

L'index de masse corporelle (IMC) a été calculé selon la formule :

$$\text{IMC (Kg/m}^2\text{)} = \text{Masse (Kg)} / \text{Taille}^2 \text{ (m}^2\text{)}$$

La surface corporelle (BSA) a été déterminée en utilisant la formule de Du Bois (81): $\text{BSA (m}^2\text{)} = 0,007184 \times (\text{poids kg})^{0,425} \times (\text{taille cm})^{0,725}$

L'origine ethnique et la situation clinique (tabac, HTA, diabète (si oui depuis quand) et dyslipidémie (oui ou non, si oui traité ou non), antécédents néphrologiques et /ou urologiques personnels ou familiaux ont été relevés.

L'IMC et la surface corporelle de chaque patient ont été déterminés et noté également. Le niveau d'études et le traitement complet sont précisés ainsi que l'existence ou non des œdèmes déclives ou des membres inférieurs.

Les critères d'exclusion sont :

Prise de corticoïdes,

Dysthyroïdie,

Patients dialysés,

Oligurie,

Patients transplantés rénaux,

Allergie connue aux produits de contraste iodés,

Utilisation des diurétiques de l'anse dans les quatre heures précédant le test

7.1.3 Appareillages pour dosage de l'iohexol :

7.1.3.1 Appareil HPLC

De marque SHIMATZU modèle Nexera XR : composée de :

Noms :	Modèles :
Cerveau	CBM-20A Communication Bus module
Injecteur chromatographique	NexeraX2 SIL-30AC
Pompe HPLC A et B	LC-20AD XR
Détecteur UV	SPD-20A
Dégazeur à membrane	DGU-20A5R
Four à colonne	CTO-20C
1 PC + Logiciel LC Solution	

7.1.3.2 Colonne :

Shim-pack GIST 3 μ C18 Shimatzu

Bonding : C18

Diamètre de pore silice : 3 μ m

Longueur : 100 mm

Diamètre 21mm

Numéro de série : 16L04246

7.1.3.3 Centrifugeuse :

Presvac DCS- 16RTV, rotor 24 positions

NS : 22022

7.1.3.4 Vortex :

Technokartell TK3S code f202Q0176KA NS : 260239

7.1.3.5 Microcentrifugeuse :

Sigma Model : 1-4

NS : 167108

7.1.3.6 Balance de précision :

1/1000 Marque OHAUS Model : PQ423C

NS : B.749116457

7.1.3.7 Hotte :

Type Sorbonne

7.1.3.8 PHmètre + Agitateur magnétique :

Marque OHAUS Model: ST3/00

NS: B.806392448

7.1.3.9 Agitateur Magnétique :

Marque VELP scientifica

7.1.3.10 Multiple agitateur :

NS : 433559

Code : F203A0177

7.1.3.11 Bain marie : JP Selecta

NS : 642402

7.1.4 Réactifs pour le dosage de l'iohexol :

7.1.4.1 Acide Métaphosphorique(MPA) :

SIGMA-ALDRICH, conservation à température ambiante ;

7.1.4.2 Di potassium Hydrogéo Phosphate (K₂HP04):

500g, conservation à température ambiante ;

7.1.4.3 Acide formique (AF) ; 99% ;

7.1.4.4 Acétate d'Ammonium à 7,5 M : conservation entre 2 et 8°C ;

7.1.4.5 Acétonitrile: Honeywell, Riedel-de Haen

lot N° K 115 M
Mat N° 10193144;

7.1.4.6 Methanol: Honeywell, Riedel- de Haen

Lot N° J093S
Cat N° 34860-2,5l;

7.1.5 A préparer le jour de la manipulation

7.1.5.1 Acide Métaphosphorique 5% :

Dans un tube de 10ml peser 0,5 g de MPA+ 10 d'eau distillée ultra pure cette solution ne se conserve que 24 heures (Dissolution lente)

7.1.5.2 Tampon K₂HPO₄ 10Mm, PH 7, 0 (AF):

Dans un bécher de 500 ml, mettre environ 200 ml H₂O ultra pure + 0,696 g de K₂HPO₄ (PM 174,18)

Ramener le PH à 7,0 avec l'acide formique

QSP 400 ml avec eau ultra pure dans une éprouvette de 500 ml

Ces 400 ml sont répartis dans 3 flacons de 125 ml

Conservation 2 mois entre -18°C et - 20°C

7.1.5.3 Phase mobile:

7.1.5.3.1 Phase B:

Acétate ammonium (NH₄)

PH à 3,4 (Acide Formique)

Acétonitrile 2%

QSP 400 ml H₂O ultra pure

Dans bécher de 500 ml :

Environ 250 ml H₂O ultra pure + 533 μ l d'Acétate NH₄ à 7.5 M

Agiter avec barreau magnétique.

Après avoir calibré le pH mètre,

Ajuster le pH à 3.4 avec quelques gouttes d'Acide Formique

Transvaser dans éprouvette de 500 ml avec bouchon rodé.

Ajouter 8 ml d'Acétonitrile mesuré avec éprouvette de 10 ml

Ajuster à 400 ml avec H₂O ultra pure.

Mélanger.

Transvaser dans flacon ambré Phase B de 500 ml

Conservation 1 semaine à T° ambiante

7.1.5.3.2 Phases de rinçage

7.1.5.3.2.1 Phase C :

Acétate d'ammonium 1M, PH 2.5 (acide formique), MeOH 75%

Pour 400 ml de phase : Dans bécher de 250 ml

Mesurer 53 ml d'Acétate d'Ammonium 7.5M avec éprouvette

Ramener le pH à 2,5 avec de l'Acide Formique 99 % (environ 50 ml)

Transvaser dans éprouvette de 500 ml avec bouchon rodé.

QSP 400 ml avec MeOH pur (environ 74 %)

Mélanger

Transvaser dans flacon ambré de 500 ml

Conservation 3 mois à T° ambiante

7.1.5.3.2.2 Phase A :

MeOH/H₂O (80 / 20)

Dans éprouvette de 500 ml avec bouchon rodé

Mesurer 400 ml de MeOH pur

QSP 500 ml H₂O ultra pure

Mélanger

Transvaser dans flacon ambré Phase A de 1000 ml

Conservation 3 mois à T° ambiante

7.1.5.4 Calibrants et contrôles :

La détection d'une substance dans le sérum par High Performance Liquid chromatography (HPLC) à détecteur UV visible se fait par la mesure de l'absorbance de celui-ci par cette substance qui sera transmise sous forme d'un pic dit ``pic d'absorbance`` sur un écran de réception, ce pic possède quelques caractéristiques spécifiques tel que l'amplitude, l'aire sous la courbe et la longueur d'onde où cette substance absorbe le rayon UV. L'étude de ces caractéristiques permet de reconnaître cette substance et de déterminer sa concentration en mesurant soit l'aire sous la courbe ou l'amplitude de ce pic qui sont proportionnelles à la concentration de cette substance.

Pour pouvoir déterminer la concentration d'une substance donnée, il est important de disposer de celle-ci afin de réaliser des dilutions successives de concentration connues. Ces dilutions seront analysées sur le même appareil, on aura un pic d'absorbance avec son amplitude et son aire sous la courbe pour chaque concentration, ainsi une courbe dite d'étalonnage est tracée avec en ordonné les différentes concentrations et en abscisse

les aires sous la courbe ou l'amplitude du pic de chaque concentration, cette courbe est de type $y = ax+b$.

Pour déterminer la concentration de cette substance dans un échantillon de sérum il suffit juste d'avoir le pic d'absorbance et de déterminer l'aire sous la courbe ou l'amplitude de ce pic. En utilisant cette formule on pourra facilement déterminer la concentration de l'échantillon.

Parfois, il est possible d'avoir des étalons de concentration connue fournis par l'industrie.

Les contrôles internes sont des préparations de concentration connues de différents niveaux réalisées au laboratoire dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser pour vérifier la fiabilité et la précision de la technique d'analyse.

7.1.5.4.1 Calibrants :

Référence Produit lohexol : **OMNIPAQUE 300 mg I/ml** (Iode)

Conservation 1 an entre 2° et 8 °c **non ouvert**

Conservation 3 mois entre 2° et 8 °c **après ouverture**

Pour 1 ml de solution : lohexol 647 mg (soit 787.9 mM)

PM lohexol 821,14 contient 3 Iodes (3 x 127 = 381 mg)

Gamme lohexol en μM : 525,25 – 262,6 – 131,3 – 65,65 – 32,8 – 16,4

Préparation de la solution mère à 3151,6 μM :

Dilution au 1/25 = 31516 μM 1000 μl à la pipette Hamilton qsp 25 ml
NaCl en fiole jaugée teintée.

Dilution au 1/10 = 3151,6 μM 1000 μl à la pipette Hamilton qsp 10ml
NaCl en fiole jaugée teintée.

Cette dilution se conserve 3 mois dans une fiole jaugée entre 2°C et 8°C

Un aliquot de cette solution est préparé dans un eppendorf pour les dilutions suivantes pour éviter les contaminations.

Préparation de la gamme de calibration :

A partir de la solution mère une gamme de calibration est préparée le jour de la manipulation pour cela nous avons utilisé un sérum humain dont on a vérifié qu'il ne contient aucun pic interférant

La première étape consiste à préparer une dilution intermédiaire :

Dilution au 1/3 = 1050,5 200 µl de la dilution 1/10 + 400 µl de NaCl dans un eppendorf de 2 ml

La deuxième étape consiste à préparer une gamme de calibration par une cascade de dilution :

Dilution au 1/2 = 525,25 200 µl de sérum humain et 200 µl de la solution à 1/3 vortexer

Dilution au 1/2 = 262,6 200µl de sérum humain et 200 µl de la dilution précédente Vortexer

Dilution au 1/2 = 131,3 200 µl de sérum humain et 200 µl de la dilution précédente Vortexer

Dilution au 1/2 = 65,65 200 µl de sérum humain et 200 µl de la dilution précédente Vortexer

Dilution au 1/2 = 32,8 200 µl de sérum humain et 200 µl de la dilution précédente Vortexer

Dilution au 1/2 = 16,4 200 µl de sérum humain et 200 µl de la dilution précédente Vortexer et jeter 200 µl

Au final on aura un volume de 200 µl

Un blanc est réalisé par le sérum humain utilisé pour les dilutions qui ne contient de l'iohexol

7.1.5.4.2 Contrôles internes :

A partir d'un sérum humain de sujets sains 500 ml dont aura vérifié qu'il ne contient aucun pic interférant (blanc sérum).

On réalise 3 niveaux de contrôle :

Bas : environ 40 µM

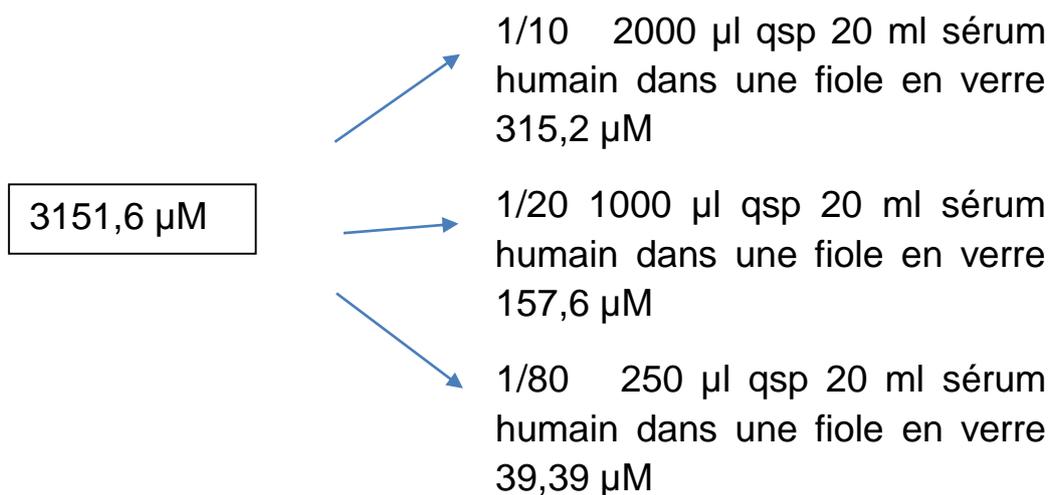
Moyen : 160 µM

Haut : 300 μM

A partir de la solution mère de l'iohexol Omnipaque 300 à 787,9 mM :

Dilution 1/10 = 3151,6 μM : 1000 μl à la pipette Hamilton ASP10 ml de NaCl en fiole jaugée teintée

Dilution dans le sérum humain comme suit :



Les solutions ainsi préparées sont aliquotées par fractions de 200 μl en eppendorf de 2ml et congelées entre -18°C et -25°C

A chaque série d'analyse un aliquot de chaque niveau est décongelé et traité comme un patient puis injecté en double en début et à la fin de série.

7.1.6 Dosage de la créatinine :

- Appareillage nécessaire : Analyseur automatique Cobas Intégra 400 plus (Roche diagnostic).

- Réactifs ; composition et concentration.

7.1.6.1 La méthode colorimétrique : Jaffé cinétique : Traçable en IDMS

Dénomination :

Créatinine Jaffé Gén 2. (crej2)

Référence : 04810716190

Réactifs composition et concentration :

Hydroxyde de potassium 80 mmol/l

Phosphate 12 mmol/l

Acide picrique 4,4mmol/l

PH 13

Kit prêt à l'emploi

7.1.6.2 La méthode enzymatique : Traçable IDMS

Dénomination :

Créatinine PLUS ver 2 (CREP2)

Référence 03263991190

Réactifs et concentration :

TAPS (acide trihydroxyméthyl amino-3propane sulfurique) Concentration 34, 5 mmolo/l

Créatinase $\geq 209 \mu \text{ kat/l}$

Sarcosine-oxydase $\geq 83 \mu \text{ kat/l}$

Ascorbate oxydase $\geq 21 \mu \text{ kat/l}$

Catalase $\geq 1,05 \mu \text{ kat/l}$

Kit prêt à l'emploi

7.2 Méthodes :

Ce travail est le fruit de collaboration avec le service de néphrologie de la clinique Daksi à Constantine, le service de néphrologie du centre hospitalier universitaire de Batna et le service de néphrologie du centre hospitalier universitaire de Sétif.

Les laboratoires ; du centre anti cancer de Sétif et le laboratoire de chimie analytique de l'université Sétif-1 ont été au centre dans la réalisation de ce travail en fournissant aide et assistance tout au long de la réalisation de ce travail.

Le laboratoire d'analyse Reggad a fourni une aide très précieuse en réalisant tous les dosages de créatinine par les deux méthodes enzymatique et Jaffé cinétique à titre gracieux.

Le laboratoire central du centre hospitalier de Sétif a contribué à ce travail par le traitement des échantillons prélevés.

Une mention très spéciale est à attribuer au laboratoire d'exploration fonctionnelle et de sa principale responsable de l'hôpital Edouard Herriot de Lyon en me fournissant tous les outils pour la détermination du débit de filtration glomérulaire : le protocole d'analyse avec tous ses détails et le logiciel de calcul du débit de filtration glomérulaire.

Le laboratoire de recherche sur les maladies cardio-vasculaire, génétique et nutritionnelle (LRCVGN) ainsi que tous ses responsable ont permis la concrétisation de ce travail en fournissant la plateforme nécessaire avec tout son matériel.

Suite à l'approbation du comité d'éthique du centre hospitalier de Douéra, l'étude a été menée par un recrutement successif selon les critères décrits au chapitre précédent.

La collecte des spécimens et la détermination des différents paramètres biologiques ont été fait selon le protocole suivant :

La mesure du débit de filtration glomérulaire (DFG) comporte deux étapes :

7.2.1 Injection de l'Iohexol :

L'examen est réalisé en hospitalisation de jour ; chaque participant a fait l'objet d'un examen clinique minutieux, ses antécédents notés notamment les antécédents de terrain atopique et la liste des médicaments précisée.

7.2.1.1 Etape initiale :

Une prise de le sang à jeun sur tube héparinate de lithium ; un tube pour le dosage de la créatinine par les trois méthodes et le deuxième constitue un témoin identifié comme t_0 pour le dosage de l'Iohexol qui sera analysé comme tous autres prélèvement réalisés ultérieurement.

7.2.1.2 Injection de l'Iohexol :

L'étape suivante consiste en l'injection de 5ml d'Iohexol (Omnipaque®), 647mg/ml d'Iohexol et 300mg/ml d'iode, GE Hearthcare). La seringue est

pesée sur une balance de précision 1/1000 de marque OHAUS avant et après l'injection afin de déterminer le poids exact du produit injecté et en déduire la dose.

L'heure de l'injection est notée, suite à cela une série de 4 prélèvements sanguins sur tube type héparinate de lithium sera ensuite réalisée à intervalles de temps prédéfinis par rapport à l'injection de l'iohexol : 120, 180, 240 et 300 minutes après l'injection, identifiés t_{120} , t_{180} , t_{240} et T_{300} sur les tubes et les horaires exacts sont également notés avec précision.

Une fois que tous les prélèvements sont faits une centrifugation est réalisée à 3500 tours minute afin de séparer le plasma qui sera ensuite congelé à -20°C en attendant d'être traités.

7.2.2 Dosage de l'iohexol :

Le dosage de l'iohexol a été fait sur les prélèvements avant injection de l'iohexol (t_0) ainsi que sur les prélèvements réalisés à 120 mn, 180 mn, 240 mn 300 mn notés t_{120} , t_{180} , t_{240} et t_{300} .

La concentration plasmatique a été déterminée par High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (chromatographie liquide à haute pression) selon la méthode décrite par Krutzen(1).

7.2.2.1 Le principe de la chromatographie :

Pour pouvoir déterminer avec précision la concentration d'un composé dans une solution, il est indispensable que celui-ci soit identifié et séparé des autres composés qui se trouvent dans cette même solution.

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification.

La chromatographie en phase liquide comporte deux phases :

- Une phase dite liquide permettant de transporter la solution à analyser dans la deuxième phase
- Une phase dite stationnaire où s'effectue la séparation des composés.

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la

nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire et seront ainsi séparés. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié UV visible ou détecteur à diode (DAD) les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

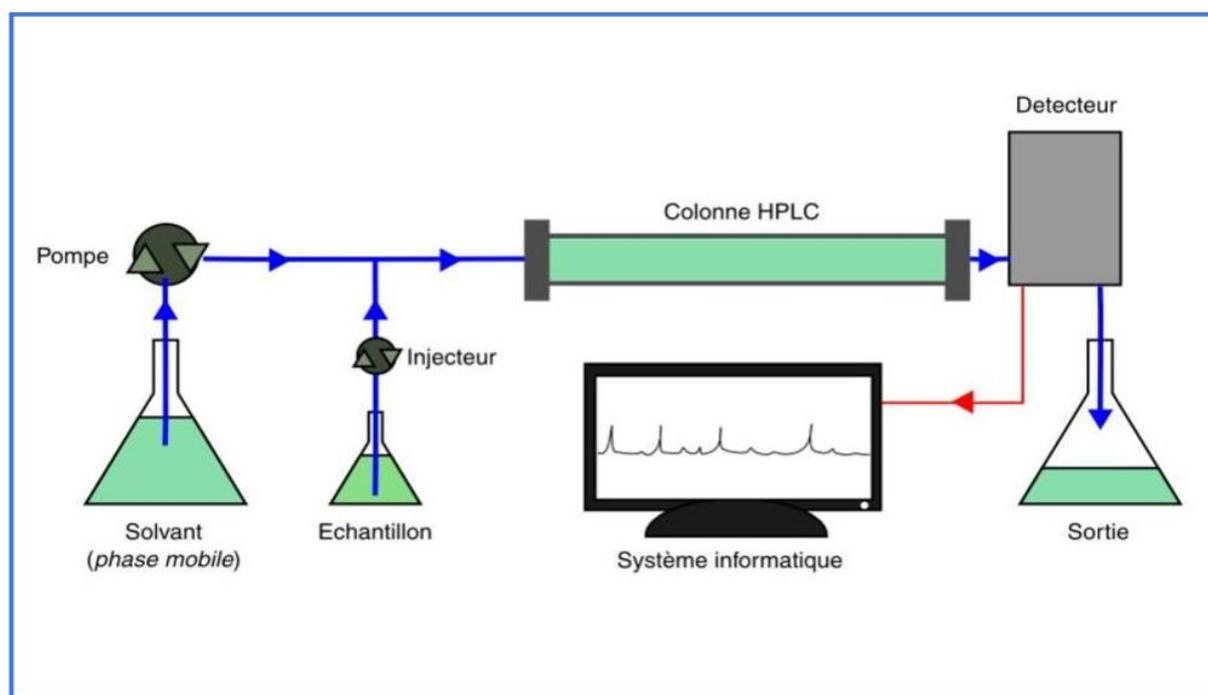


Figure 5 : Principe de la chromatographie liquide à haute performances

7.2.2.2 Procédure de préparation des échantillons pour le dosage de l'iohexol :

Cette procédure comporte trois étapes :

- Préparation des solutions nécessaires
 - Acide Métaphosphorique 5% (MPA5%) pour la précipitation des protéines qui est préparée le jour de la manipulation
Dans un tube de 10ml est pesé 0,5g de MPA auquel est rajouté de l'eau ultrapure pour un volume total de 10 ml

- Tampon Di potassium Hydrogène Phosphate(K_2HPO_4) 10mM, PH 7,0

Dans un bécher de 500ml, on met 200ml d'eau ultrapure + 0,696g de K_2HPO_4 (PM 174,18)

Le PH est ramené à 7 avec avec l'ajout de quelques gouttelette d'acide formique suite à quoi le mélange est complété pour avoir une quantité de 400ml dans une éprouvette de 500ml

- Préparer la gamme de calibration (voir chapitre Matériel et méthode)

- Préparation des échantillons sanguins

Le jour de la manipulation sont préparés les échantillons prélevés : chaque sujet doit avoir cinq sérums comportant l'identifiant de celui-ci ainsi que le temps correspondant (t_0 , t_{120} , t_{180} , et t_{300}), les contrôles internes ainsi que la gamme de calibration (ou étalon) préparée le jour de la manipulation.

- Préparation du dosage :

Avant le dosage, les spécimens à analyser sont préparés selon le protocole suivant :

- Décongeler les échantillons sériques à analyser, les sérums de contrôle ainsi qu'un sérum ne contenant pas d'iohexol appelé blanc ;
- Ranger les échantillons sériques à analyser dans l'ordre selon lequel ils apparaissent sur la liste de travail ;
- Homogénéiser et centrifuger les échantillons sériques à 4000 tours/minute pendant 5 minutes ;
- Numéroter les micro-tubes coniques dits eppendorf de 2 ml avec les numéros correspondant au plan de travail :

- 6 tubes pour la gamme étalon identifiés avec la concentration ;
- 3 tubes pour les contrôles internes identifiés avec la concentration ;
- 5 tubes pour chaque sujet comportant son identifiant ainsi que le temps du prélèvement ;
- 4 tubes contenant un sérum de sujet sain appelé blanc.

7.2.2.3 Réalisation du dosage :

Dans chaque tube conique eppendorf correctement identifié, mettre 200µl de sérum de chaque prélèvement auquel on rajoute 200µl de MPA 5% distribués avec la pipette répétitive (soit une dilution au 1/2 du sérum) ;

Mélanger au vortex pendant 10 secondes ;

Centrifuger 8 minutes à 12000 rpm dans une microcentrifugeuse ;

Prélever 200µl de surnageant dans un autre tube conique et le diluer par 1400µl K₂HPO₄ 10 mM pH 7,0 ;

Filtrer la solution ainsi obtenue par un filtre de 0,2µm directement dans le vial de 2ml identifié à visser avec bouchon, on obtient une dilution de 1/8 ;

Au final on obtient :

6 vials de la gamme d'étalonnage (calibration) Identifiés avec la concentration 525,25/ 262,6/ 131,3/ 65,65/ 32,8/ 16,4 ;

3 vials des contrôles internes 40µM, 160µM et 300µM ;

5 vials par personne correspondant au t₀, t₁₂₀, t₁₈₀, t₂₄₀ et t₃₀₀ ;

1 vial de sérum seul : banc

Ainsi, les vials sont prêt à l'analyse, seront placés dans le portoir prévu à cet effet et placés dans l'appareil pour injection et pour analyse.

Dosage sur la chaine High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Selon les paramètres définis par Krutzen (1):

Débit : 1 ml /min ;

Pression : < 50 bars ;

Température du four à colonne : 50°C ;

Phase mobile : Mélange acétate d'ammonium 10mM, Ph 3,4 (acide formique)/acétonitrile 2% ;

Volume injecté : 20µl ;

Longueur d'onde de mesure : 245 nm ;

Colonne C18 100mm, diamètre de pore 3µm.

7.2.2.4 Lecture et compilation des résultats

A la fin de l'analyse, la compilation des résultats consiste à :

- Sélectionner le pic dans la zone de migration de l'iohexol (Temps de rétention 1,5 min) ;
- Déterminer l'aire sous la courbe ;
- A partir des étalons, tracer la courbe d'étalonnage (surface des pics en fonction des concentrations connues d'étalon) ;
- Déterminer l'équation de la courbe d'étalonnage de la forme : $y = ax + b$
- A partir des aires de chaque pic d'échantillon (y), calculer les concentrations d'iohexol (x) correspondantes ;
- Les concentrations sont exprimées en µmol/mL.

7.2.2.5 Rinçage de la boucle d'injection et de la colonne

A la fin de chaque série est injecté 10µl d'une solution Acétonitrile/eau (50/50) pour rincer la boucle d'injection.

Un programme de rinçage de la colonne est également lancé :

30 min Acétate d'ammonium 1 M, pH 2,5 (AF) (phase C)

2heures rinçage avec un mélange de Méthanol et eau (MeOH/H₂O) (80/20) phase A.

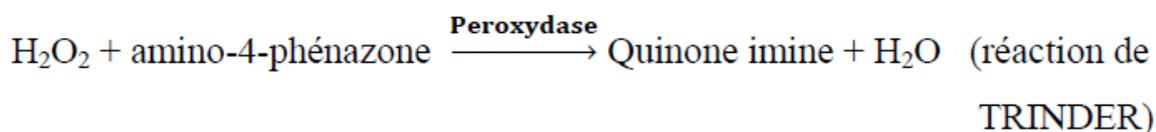
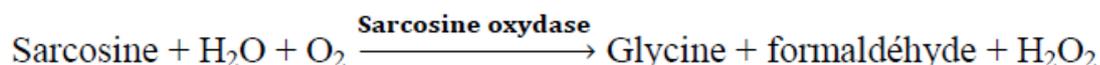
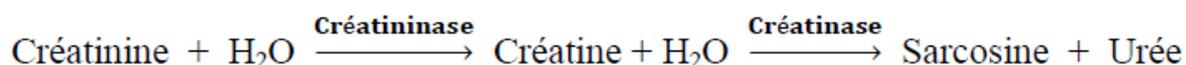
7.2.3 Dosage de la créatinine

Afin d'apprécier l'incidence de la méthode dosage de la créatinine sur les résultats des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire, celle-ci a été réalisé sur un prélèvement initial avant l'injection de iohexol par deux méthodes :

- La méthode enzymatique
- La méthode cinétique

7.2.4 La méthode enzymatique :

La méthode de dosage enzymatique de la créatinine repose sur le dosage de la Sarcosine obtenue après transformation de la créatinine à l'aide de créatininase et de créatinase. L'action de la Sarcosine-oxydase sur la sarcosine conduit à la formation d'eau oxygénée qui est mesurée à l'aide d'une réaction de Trinder modifiée. Cette méthode est calibrée sur spectrométrie de masse, sur analyseur Cobas Intégra à longueur d'onde 505 nm (Roche diagnostic)



(incolore)

rose / lecture à 505 nm

7.2.5 La méthode cinétique :

C'est une méthode colorimétrique qui consiste à mettre en contact le sérum à analyser avec l'acide picrique qui en milieu alcalin donne une coloration rouge orangée dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de la créatinine. Cette méthode n'est pas spécifique puisque de nombreux composés contenus dans le sérum interagissent avec l'acide picrique, pour identifier l'intensité de la coloration liée à la créatinine on se base sur la lecture dite en deux points c'est-à-dire à vingt seconde et à quatre-vingt seconde et la concentration ainsi obtenue correspond à la moyenne des concentrations à vingt secondes et à quatre-vingt seconde. Cette méthode est dite en deux points.

7.3 Les méthodes de détermination du débit de filtration glomérulaire

7.3.1 Détermination du DFG mesuré (DFGm) par clairance plasmatique de l'iohexol :

Nous avons utilisé le modèle pharmacocinétique monocompartimental dans lequel l'organisme est assimilé à un compartiment unique (le plasma) où se répartit la substance injectée (le marqueur). Dans ce modèle, La concentration $c(t)$ du marqueur à un temps « t » donné dans ce compartiment après la fin de l'injection est égale à l'exponentielle de « t ».

$$C(t) = I_1 e^{-b_1 t} \frac{\text{Dose injectée}}{\text{ASC}}$$

Où I_1 est l'intercepte de la courbe sur l'axe des ordonnées, ce qui correspond à la concentration théorique du marqueur dans le compartiment à la fin de l'injection et b_1 le débit constant d'élimination.

L'intégrale de cette fonction correspond à l'ASC et est égale à I_1/b_1 . Dans ce modèle uni-compartimental, le calcul de l'ASC ne tient donc pas compte de la première composante de distribution (car les prélèvements sanguins sont effectués après un intervalle de temps suffisant pour s'affranchir de cette première composante de distribution) et est donc sous-estimée. La clairance plasmatique et le DFG (dose injectée/ASC) s'en trouvent donc surestimés.

Afin de compenser la phase de distribution, la mesure du DFG a été corrigée par la formule de Brochner-Mortensen (20) publiée en 1972.

Les résultats ont ensuite été normalisés à la surface corporelle (BSA) en utilisant la formule de Du Bois (81) .

7.3.2 Etapes de dosage et du calcul du DFG par la clairance de l'iohexol :

Pour un échantillon contenant de l'iohexol dont la concentration est inconnue, celle-ci est déterminée en mesurant l'aire sous la courbe du pic de l'iohexol sur HPLC qui permettra ensuite de déterminer la concentration par l'utilisation de l'équation $y = ax + b$

y aire sous la courbe

x concentration

$$X = \frac{y-b}{a}$$

Exemple pratique concret de la détermination des concentrations de l'iohexol pour mesurer le débit de filtration glomérulaire chez un sujet quelconque :

Ce sujet possède cinq prélèvements au temps 0 (t0) avant l'injection de l'iohexol, au temps 120min (t120), 180min (t180), 240min (t240) et 300min (t300) Après injection de l'iohexol.

Première étape :

Préparer la solution acide métaphosphorique à 5% (cf chapitre méthode)

Préparer la solution tampon K_2HPO_4 10 Mm

Deuxième étape :

Décongeler les sérums du sujet et les centrifuger 3500 Trs pendant 5 minutes ;

Préparer cinq tubes coniques type eppendorf identifiés : nom et le temps du prélèvement t0, t120, t180, t240 et t300 ;

Prélever 200µl de sérum de chaque sérum et les mettre dans chaque tube conique correspondant ;

On rajoute 200 µl d'acide métaphosphorique à 5% dans chaque tube par une pipette pour déprotéiniser le sérum ;

On centrifuge le mélange dans une micro-centrifugeuse à 12000 tours pendant 8 minutes ;

On prélève le surnageant qu'on va mettre dans un autre tube conique auquel on rajoute 1400µl de la solution tampon ;

La solution obtenue est filtrée directement dans un tube à bouchon vissé appelé vial ;

Au final on obtient cinq vials au temps t0, t120, t180, t240 et t300 min, ces tubes sont prêts pour analyse.

Troisième étape :

Passage sur HPLC aux conditions décrites au chapitre matériels et méthodes

On obtient les résultats de l'aire sous la courbe pour chaque prélèvement :

Les aires sous la courbe sont les suivantes :

A t0 : 0

A t120 : 68046

A t180 : 46000

A t240 : 37370

A t300 : 26321

Pour déterminer la concentration correspondante pour chaque prélèvement on utilise la formule de la courbe d'étalonnage suivante :

$$y = 742,95x + 12466$$

x : concentration

y : aire sous la courbe

$$x = y - 12466 / 742,95$$

En appliquant cette formule on obtient pour chaque aire sous la courbe une concentration :

$$A t120 : 68046 - 12466 / 742,95 = 74,8 \mu\text{mol/ml}$$

$$A t180 : 46000 - 12466 / 742,95 = 45,1 \mu\text{mol/ml}$$

$$A t240 : 37370 - 12466 / 742,95 = 33,5 \mu\text{mol/ml}$$

$$A t300 : 26321 - 12466 / 742,95 = 18,6 \mu\text{mol/ml}$$

Une fois les concentrations pour chaque temps obtenues, un logiciel sera utilisé pour tracer la courbe de décroissance, qui servira à calculer le débit de filtration glomérulaire (DFG).

Noter les concentrations dans le tableau suivant :

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence utilisant l'Iohexol comme marqueur dans la population algérienne

PHOX		CLAIRANCE			Ref.Labo 0	
Nom: #NA		Date Examen: #NA				
	Iohexol µmol/l	Iohexol mg/l	LN conc Iohexol (mg/l)	Urée mmol/l	Créat mmol/l	µAlb mg/l
ST		0,0		#NA	#NA	
S1	74,8	61,4	4,12			
S2	45,1	37,0	3,61			
S3	33,5	27,5	3,31			
S4	18,6	15,3				
mmol/l						
UT				#NA	#NA	
Cystatine C (mg/L)						
Observations						

Autres paramètres ST			
	Val.	Ref.	
Sodium	#NA	mmol/L	#NA
Potassium	#NA	mmol/L	#NA
Chlore	#NA	mmol/L	#NA
Bicarbonates	#NA	mmol/L	#NA
Protéines	#NA	g/L	#NA
Glucose	#NA	mmol/L	#NA
Calcium	#NA	mmol/L	#NA
phosphore	#NA	mmol/L	#NA
Magnesium	#NA	mmol/L	#NA
ac urique	#NA	µmol/L	#NA
aspect plasma	#NA		

code diagnostic	com
#NA	
code examen	positio
#NA	

Noter le nom, prénom, âge, la taille et le poids du sujet ;

Noter le temps exact du prélèvement ;

Noter la dose exacte de l'Iohexol ;

Pour déterminer la dose exacte nous avons besoin de :

Du poids du ml de la solution Omnipaque 300 qui est de 1,288 g

La concentration de l'Iohexol dans le flacon Omnipaque 300 utilisé pour notre travail est de 647mg/ml

Le poids net delta p de la solution d'Omnipaque 300 injecté est la différence du poids de la seringue remplie et de celle-ci après injection qui est dans notre exemple 6,719 g

Pour déterminer le nombre de millilitres injecté $6,719 / 1,288$ ici il est de 5,2 ml

La dose réelle injectée est : $5,2 \text{ ml} \times 647 \text{ mg} = 3375 \text{ mg}$

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence utilisant l'iohexol comme marqueur dans la population algérienne

Nom	Prénom	Date naiss.	Sexe	Age calculé	taille	poids	Surf. Corp.	Coeff. Cor.	Age-LMX	code sexe (1 ou 2)	coeff sexe Lorentz	Poids idéal	Poids ajusté	SC avec poids ajusté
A	A		F	36,0	170	69	1,80	0,96	#N/A	2,00	2,5	62	64,8	1,75

TEMPS		PAS	PAD	FC
ST	0	#N/A	#N/A	#N/A
S1	120	#N/A	#N/A	#N/A
S2	180	#N/A	#N/A	#N/A
S3	242	#N/A	#N/A	#N/A
S4	300	#N/A	#N/A	#N/A

Dose injectée

poids seringue pleine (g)	
poids seringue vide (g)	
delta P (g)	6,719
dose d'iohexol injectée (mg)	3375

DFG calculé :

pente de la courbe en VA = α	0,0066
LN ordonnée à T0 = A	4,8995
conc T0 = Exp A (mg/l)	134,2
DFG brut = dose* α /EXP A	166,0

CKD-EPI
ml/min/1,73m²

Homme	#N/A
Femme	#N/A

MDRD
ml/min/1,73m²

Homme	#N/A
Femme	#N/A

correction BSA post BM

intercep en y0 130,204285
pente 0,00657177

Le calcul du DFG devient automatique dans la suite de tableau

Qui est de 130ml/mn/1,73m²

Le modèle compartimental utilisé est le modèle simplifié avec correction par le facteur de Brochner Morttensen.

Dose injectée

poids seringue pleine (g)	
poids seringue vide (g)	
delta P (g)	6,719
dose d'iohexol injectée (mg)	3375

Equation de la droite obtenue $y = \alpha x + b$

α (VA)	b
0,0066	4,8691

DFG calculé :

pente de la courbe en VA = a	0,0066
LN ordonnée à T0 = A	4,8691
conc T0 = Exp A (mg/l)	130,2
DFG brut = dose*a/EXP A	171,1
DFG Brut ml/min/1,73m ²	164,5
DFG Brochner (ml/min/1,73 m ²)	130,1
DFG Brochner (ml/min)	135,2

CKD-EPI
ml/min/1,73m²

Homme	#N/A
Femme	#N/A

MDRD
ml/min/1,73m²

Homme	#N/A
Femme	#N/A

correction BSA post BM

intercep en y0 130,2043
pente 0,006574
AUC 19805,14

Cl brute 170,4
Cl BM 133,5
Cl BM/1,73 128,4

correction BSA pré BM

Cl brute/1,73 163,9
Cl BM/1,73 129,7

courbe décroissance de l'iohexol

$y = -0,0066x + 4,8691$
 $R^2 = 0,9752$

7.3.3 Estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) :

Les DFG estimés ont été calculés à partir des formules MDRD, CKD-EPI et méthode de Cockcroft-Gault exprimés en mL/min/1,73m² comme suit:

MDRD créatinine (47,48)

DFG estimé (mL/min/1,73 m²) = $175 \times \{[\text{créatinine sérique } (\mu\text{mol/L}) / 88.4]^{-1.154}\} \times \text{âge (année)}^{-0.203} \times 0.742 \text{ (si femme)} \times 1.212 \text{ (facteur ethnique pour les Afro-Américains)}$

CKD-EPI créatinine (39)

DFG estimé (mL/min/1,73 m²) = $141 \times \min(\text{Scr}/k, 1)^\alpha \times \max(\text{Scr} / k, 1)^{-1.209} \times 0.993 \text{ Age} \times 1.018 \text{ (si femme)} \times 1.159 \text{ (facteur ethnique pour les Afro-Américains)},$

Scr = créatinine sérique, k = 0.7 pour femme et 0.9 pour homme, $\alpha = -0.329$ pour femme et -0.411 pour homme, min = le minimum de Scr/k ou 1, max = le maximum de Scr/k ou 1.

Formule de Cockcroft-Gault (46)

DFG (ml/min/1,73 m²) = $(140 - \text{Age}) \times \text{Poids}/\text{créatinine (mg/l)} \times 7,2$

Pour les femmes $\times 0,85$

7.4 Méthode de validation de la méthode de dosage de l'iohexol

7.4.1 Identification du pic de l'iohexol

La mesure du débit de filtration glomérulaire par la clairance plasmatique de l'iohexol comporte trois étapes

1^{ère} étape : Identification du pic correspondant à l'iohexol :

Cette étape consiste à préparer dans les mêmes conditions deux échantillons ; un dit blanc contenant un sérum de sujet sain seul et un échantillon de sérum contenant de l'iohexol à une concentration connue ici 525,5 $\mu\text{mol/ml}$, ces deux échantillons vont subir toutes les étapes de traitement décrites dans le chapitre méthodes à savoir déprotéinisation et dilution par le tampon.

Une fois passé pour analyse sur HPLC on aura les tracés suivants :

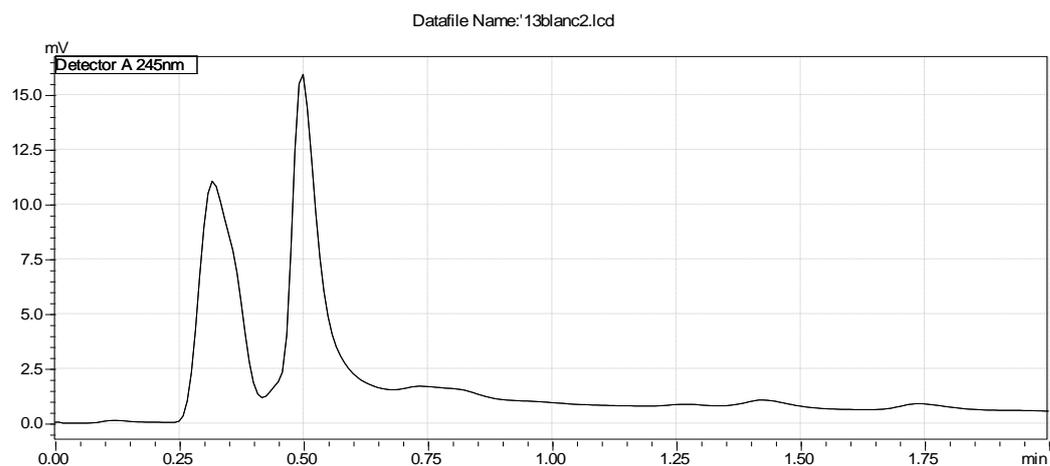


Figure 6 : Tracé 1 : Dit blanc contenant que le sérum d'un sujet sain sans Iohexol

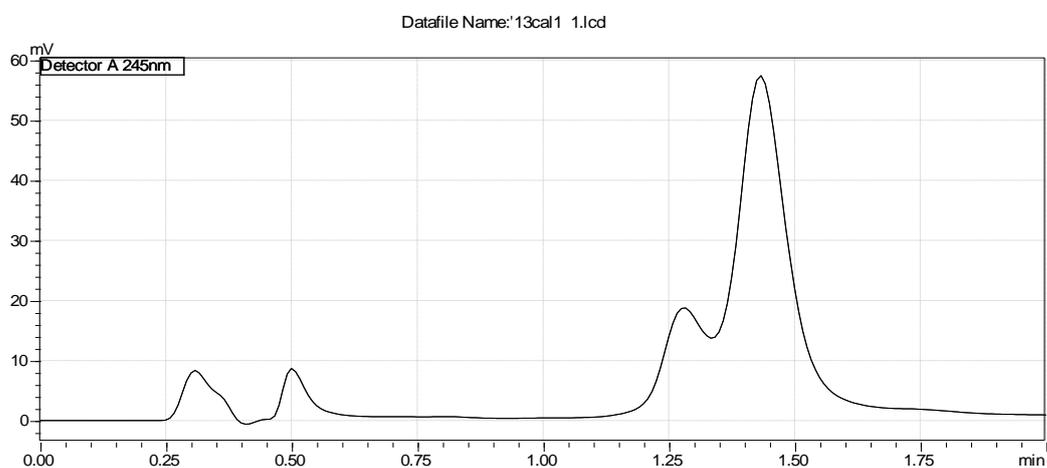


Figure 7 : Tracé 2 : Tracé du même sérum auquel on a rajouté de l'Iohexol à la concentration de 525,5 µmol/ml

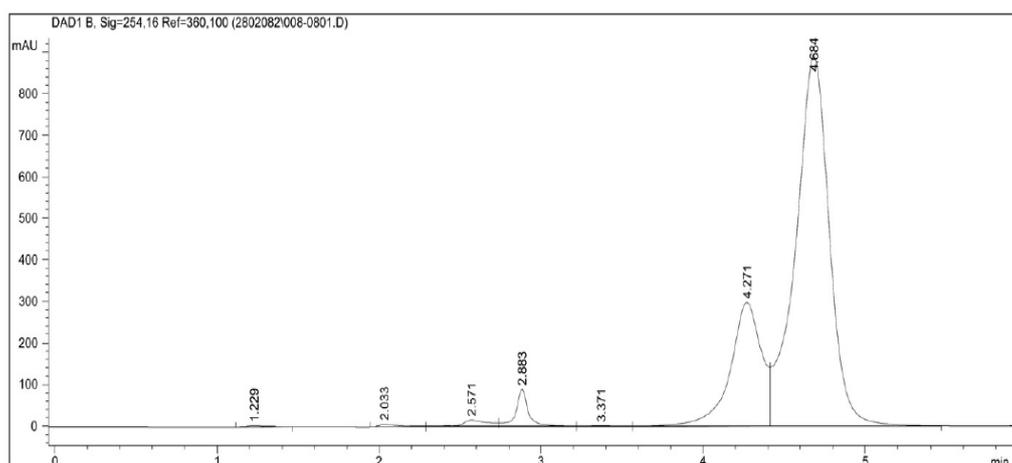


Fig. 1. Chromatogram of a serum 130 µg/ml Iohexol calibrator.

Figure 8 : Tracé 3 : Littérature (70)

Sur les deux tracés, il existe des pics communs apparaissant au même temps de rétention correspondant à un composé se trouvant dans le sérum, alors, que sur le deuxième tracé, on voit apparaître un autre pic au temps de rétention de 1,5 secondes, ce tracé comporte deux pics, un petit et un autre plus ample qui sont fusionnés à la base, comparés aux tracés de l'iohexol décrits dans la littérature, on confirme qu'il s'agit du pic correspondant à l'iohexol.

Sur ces tracés il y'a un pic principal plus ample et plus large correspondant à la molécule de l'iohexol et un pic secondaire moins ample initial correspondant à l'isomère. Pour le dosage de l'iohexol on prend en considération le pic principal.

2^{ème} étape : détermination de la courbe d'étalonnage :

Une fois la gamme de calibration est préparée (chapitre matériels) celle-ci comporte six concentrations décroissantes de 525,5 - 262,6 - 131,3 – 65,65 – 32,8 – 16,4 $\mu\text{mol/ml}$ qui seront traitées de la même façon et seront également passées en HPLC, les tracés obtenus sont les suivants :

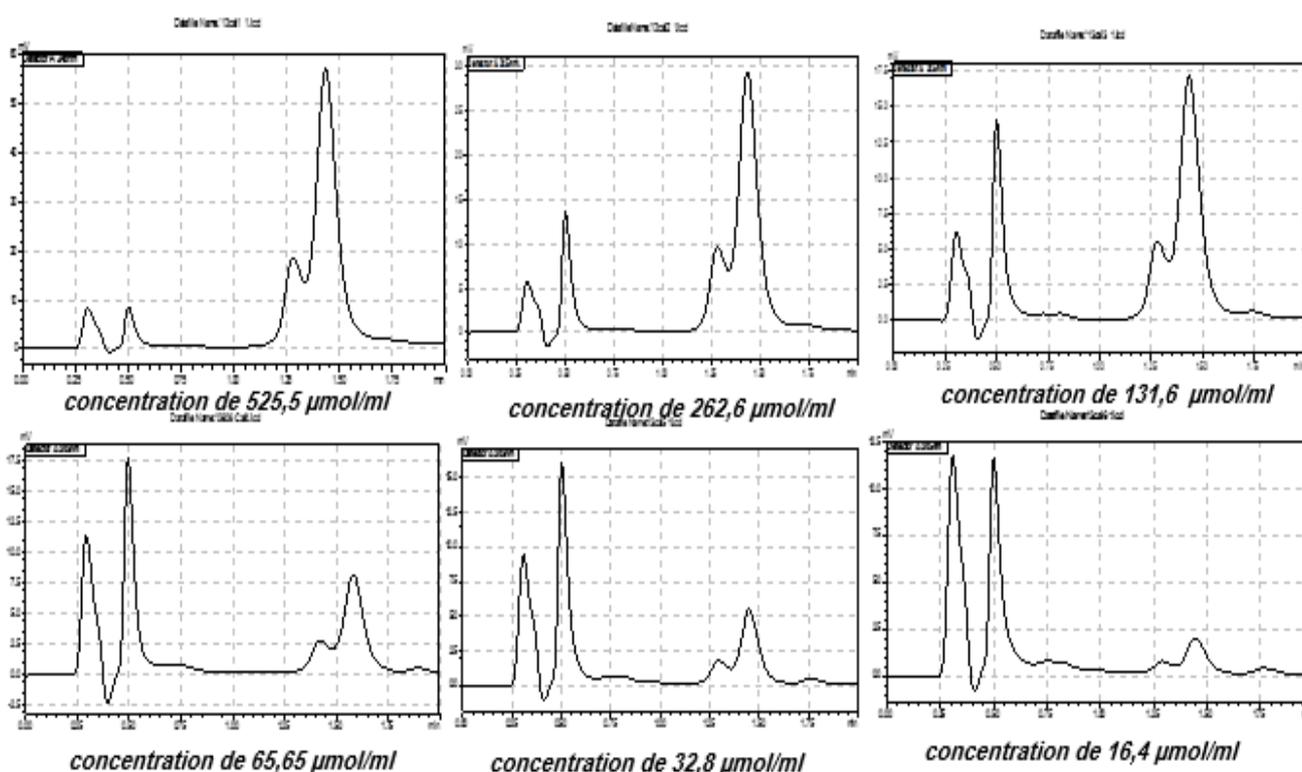


Figure 9 : Les aires sous la courbe et les amplitudes des pics d'absorbance avec les gammes d'étalons aux différentes concentrations.

Les amplitudes et des aires sous la courbe des pics obtenus sont croissantes, sont proportionnelles à la concentration de l'iohexol dans la solution étalon, elles apparaissent toutes au même temps de rétention de 1,5 minute. L'amplitude et l'aire sous la courbe de chaque concentration est mesurée pour chaque concentration.

Tableau 1 : Ce tableau donne les valeurs de l'aire sous la courbe pour chaque concentration.

concentration	Aire sous la courbe
525,5	401228
262,6	211309
131,3	109076
65,65	60976
32,8	39560
16,4	21047

Ces valeurs de l'aire sous la courbe seront utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage et nous servira à déterminer la concentration dans les échantillons des sujets pour calculer le débit de filtration glomérulaire(DFG).

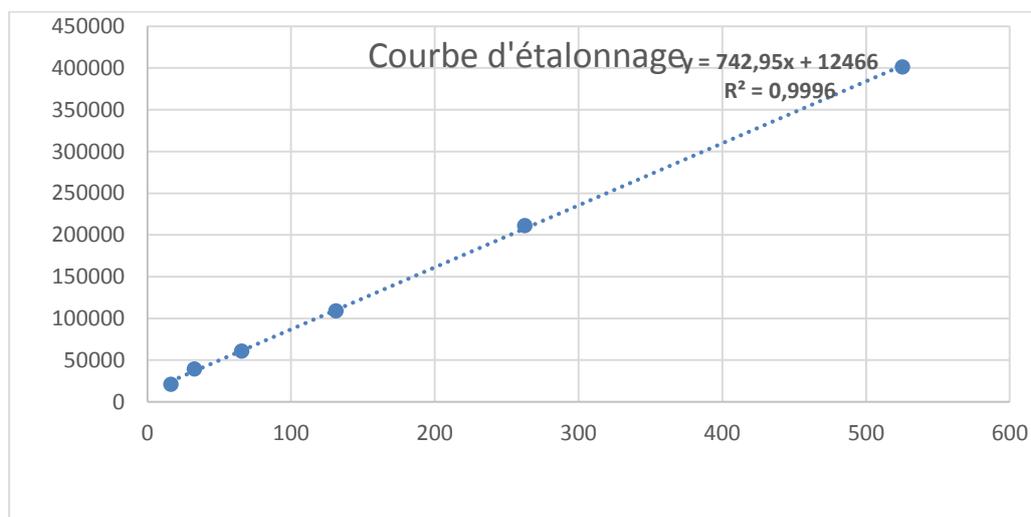


Figure 10 : Cette courbe d'étalonnage est en fait une droite de type : $y = ax + b$

x : représente la concentration

y : représente l'aire sous la courbe

7.4.2 Etude de la linéarité de la méthode de dosage de l'iohexol

La linéarité de la méthode de dosage de l'iohexol a été étudiée par les concentrations calculées pour les solutions étalons préparées préalablement aux concentrations de 16,4 - 32,8 – 65,65 – 131,3 – 262,6 et 525,25 $\mu\text{mol/ml}$.

Nous avons procédé à l'analyse des solutions de calibration trois jours de suite et nous avons calculés les concentrations correspondantes.

7.4.3 Etude de la justesse :

La justesse a été étudiée dans notre travail par les concentrations calculées pour les six gammes d'étalon répétées dix fois le même jour, nous avons déterminé la moyenne des dix concentrations calculées, par la suite nous avons déterminé le recouvrement, le biais absolu (B_i) et le biais relatif $B(\%)_i$.

Le recouvrement a été calculé comme suit :

$$R(\%)_i = \frac{\mu_i}{X_i} \times 100 \quad (\mu_i = \text{concentration calculée, } X_i \text{ Concentration introduite)}$$

Le biais : absolu (B), ou relatif (B%) ont été calculés de la façon suivante :

$$B_i = \mu_i - X_i$$

$$B(\%)_i = \frac{\mu_i - X_i}{X_i} \times 100$$

La cible pour le recouvrement est de 100% (la concentration calculée est égale à la concentration introduite).

La limite d'acceptabilité est de 15% soit (85 à 115%). Hubert Ph 2003(79)

7.4.4 Etudes de la fidélité également appelée précision) :

La fidélité a été étudiée dans notre travail par les concentrations calculées pour les six gammes d'étalon répétées dix fois le même jour dite répétabilité intra-jour et pendant trois jours dite répétabilité inter-jours. Nous avons déterminé la moyenne des dix concentrations calculées,

l'écart-type et le coefficient de variation qui ont été calculés de la façon suivante :

L'écart-type correspond à la racine carrée de la variance.

La variance est la somme des carrés de $(x_i - \mu)^2/n$

Le coefficient de variation est $\frac{\text{écart-type}}{\mu} \times 100$ exprimé en pourcentage

X_i : concentration introduites et μ : moyenne des concentrations calculées.

Un coefficient de variation inférieur à 5% est exigé pour avoir une bonne répétabilité donc une bonne fidélité. Hubert Ph 2003(79)

7.5 Analyse statistique :

L'analyse statistique a été réalisée par le logiciel : XLSTAT 2013.

La normalité des résultats a été appréciée par le test de Shapiro-Wilk.

Les résultats sont exprimés en moyenne +/- écart-type.

Les performances des équations Cockcroft-Gault, MDRD et CKD-Epi avec les différentes méthodes de dosage de la créatinine ainsi que les facteurs ethniques des populations afro-américaines, chinoises japonaises et thaïlandaises ont été appréciées par l'étude du biais, de la précision et l'exactitude à 10% (P10) et à 30% (P30) par rapport à la méthode de référence à l'iohexol.

Le biais est la moyenne des différences entre le DFG estimé et le DFG mesuré et la précision est l'écart type autour de cette différence. Le biais relatif est calculé par rapport au DFG mesuré. La P10 et la P30 sont les pourcentages de résultats estimés se trouvant respectivement dans $\pm 10\%$ et $\pm 30\%$ des valeurs mesurées.

La méthode de Bland-Altman permet la représentation conjointe du biais et de la précision(82). Celle-ci prend la forme d'un graphique avec en abscisse la moyenne des DFG mesurés et estimés, en ordonnée la différence entre le DFG mesuré et estimé. Chaque valeur est représentée et le nuage de points donne l'impression visuelle de la dispersion des valeurs autour du biais figuré par la ligne horizontale. La précision est représentée par deux lignes comprenant entre elles 95 % des estimations (le biais ± 2 écarts-types).

Pour les comparaisons statistiques nous avons utilisé l'ANOVA à un facteur et le test t de Student et la régression linéaire pour apprécier les différences entre le DFGm et les différentes formules d'estimation.

L'évaluation de la corrélation est réalisée par la détermination du coefficient de corrélation r selon Bravais-Pearson. Elle mesure la force de la relation linéaire existant entre deux variables, ici le DFG estimé et mesuré. Plus r est proche de 1, plus il existe une relation linéaire de type $y = ax + b$ entre les deux variables. Cependant, si a et b sont très différents de 1 et 0 respectivement, la justesse et la précision peuvent être faibles avec r proche de 1.

PARTIE III : RESULTATS ET COMMENTAIRES

8 Résultats de la mesure du débit de filtration glomérulaire DFGm par la clairance de l'iohexol :

Les résultats sont présentés pour l'ensemble de la population étudiée ainsi les sous populations repartis selon l'âge et le sexe.

Distribution des valeurs de DFG mesuré

Les valeurs de DFGm déterminées par Iohexol de la population d'étude sont présentées dans le **tableau 1**. Les sujets concernés sont constitués de 60 femmes et 40 hommes, recrutés selon des critères cliniques comme décrits au chapitre matériel et méthodes. Le DFGm moyen est 88,29ml/mn/1,73m² avec un écart-type de 27,90. La distribution des DFGm a montré une allure gaussienne Figure 25.

Tableau 2 : Caractéristique de la population étudiée, présentation des résultats : Moyenne ± Ecart-type.

	Total	Féminin	Masculin
Patients	100	60	40
Volontaires	41	21	20
Donneurs vivants	33	18	15
MRC	13	12	1
IRC	13	10	3
Age	42,3 ± 13,4	41,4 ± 13,7	43,7 ±
Poids	75,4 ± 13,8	71,0 ± 11,0	82,0 ± 14,8
IMC (Kg/m²)	26,9 ± 4,0	27,0 ± 3,86	26,7 ± 4,21
Surface (m²)	1,84 ± 0,2	1,75 ± 0,15	1,97 ± 0,2
Créatinine Enz. (mg/l)	8,71 ± 4,03	8,31 ± 4,40	9,31 ± 3,35
Créatinine Cin. (mg/l)	8,49 ± 3,90	8,10 ± 4,20	9,07 ± 3,40

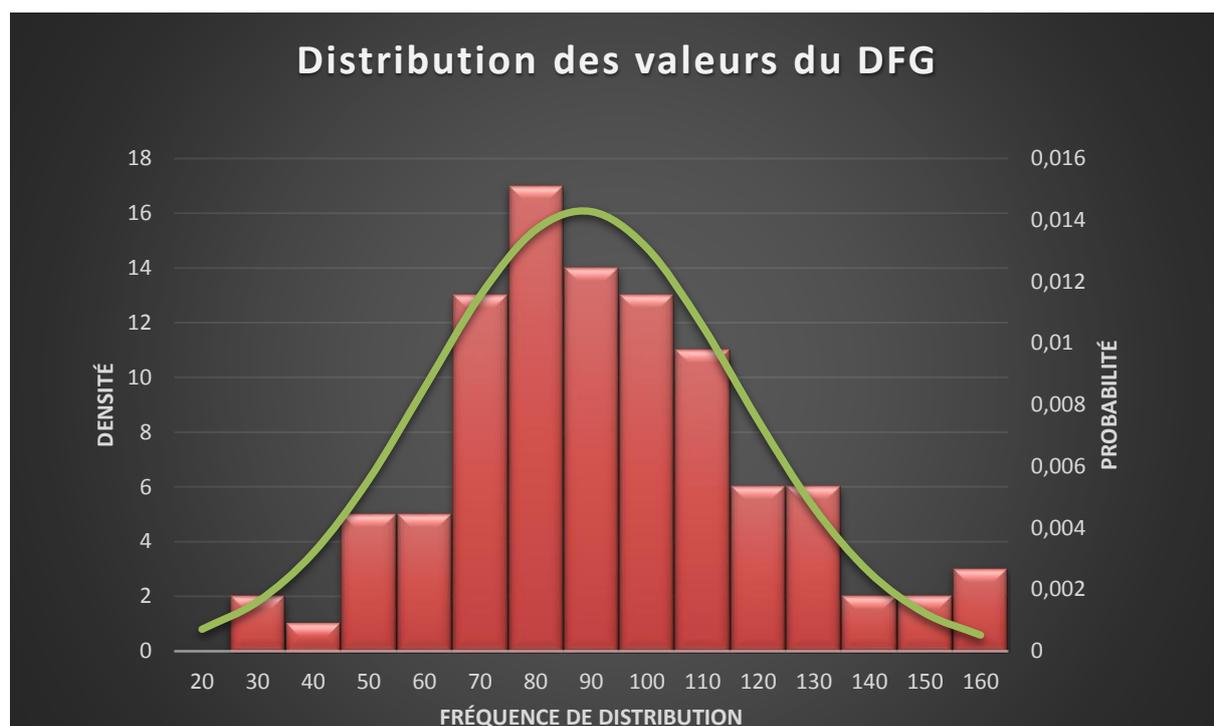


Figure 11 : Distribution du DFGm dans la population d'étude.

Le test de SHAPIRO-WILK a permis d'attester la normalité de la distribution des valeurs de DFGm.

9 Résultats de dosage de la créatinine

La créatinine a été dosée par deux méthodes ; la méthode enzymatique, et la méthode cinétique afin de déterminer une éventuelle incidence de la méthode de dosage sur les résultats de l'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG).

Ces deux méthodes sont les plus couramment utilisées et les plus validées et sont également standardisées par rapport la méthode IDMS.

9.1.1 Les résultats de la créatinine par les deux méthodes :

Les résultats sont exprimés en mg/l et présentés pour l'échantillon total avec les deux types de dosages dans le tableau suivant :

Tableau 3 : concentration de la créatinine par les deux méthodes dans l'ensemble de la population.

	Moyenne	Ecart-type	t Test
M. enzymatique (mg/l)	8,71	4,03	p value : 0,7
M. cinétique (mg/l)	8,49	3,9	

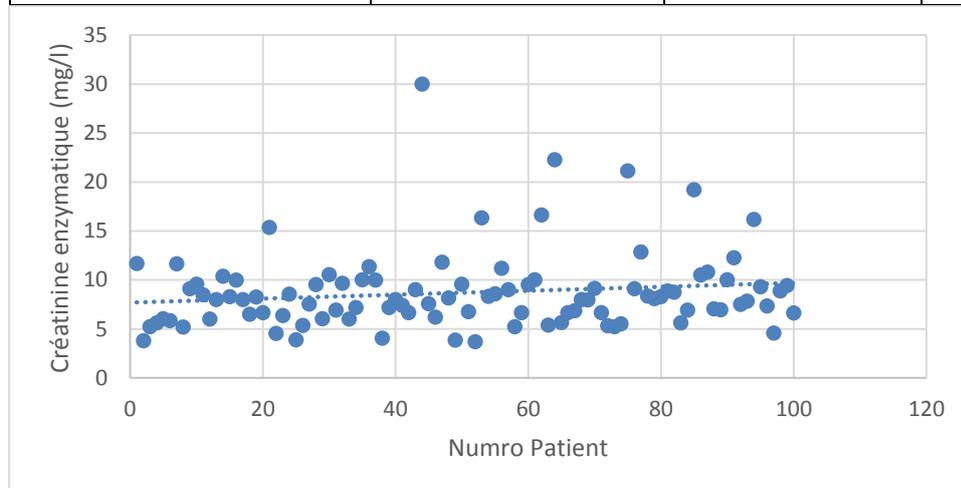


Figure 12 : Distribution de la créatinine enzymatique dans la population étudiée

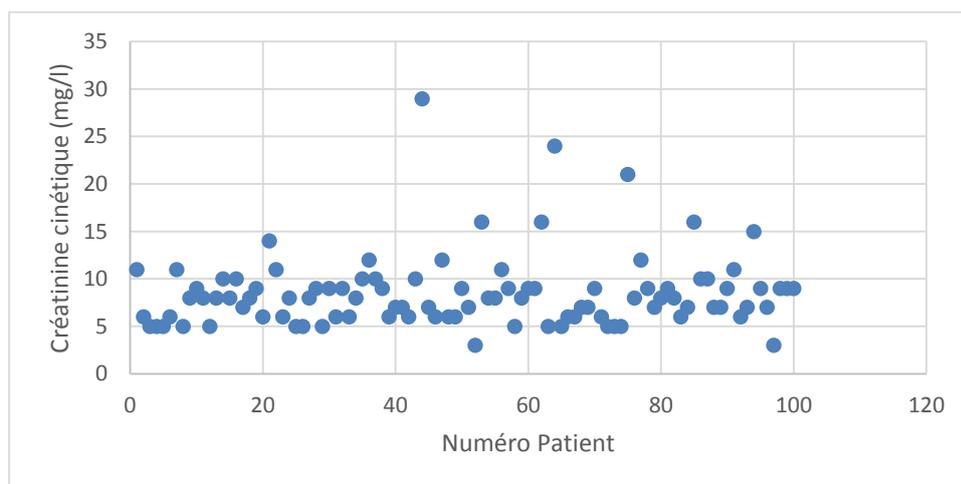


Figure 13 : Distribution de la créatinine cinétique dans la population étudiée

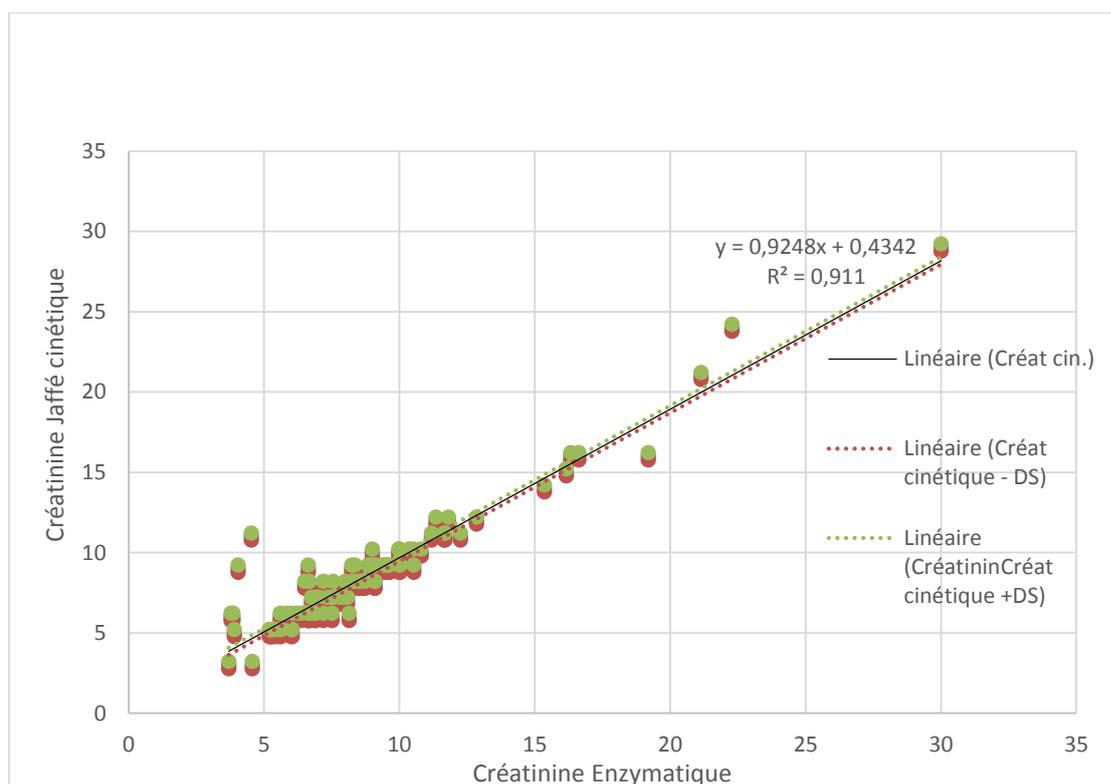


Figure 14 : Courbe d'évolution de la créatinine Jaffé cinétique et Jaffé cinétique \pm DS par rapport à la créatinine enzymatique, il existe une corrélation parfaite entre les deux types de dosage avec un $R^2= 0,911$.

Tableau 4 : régression linéaire entre créatinine enzymatique et créatinine cinétique avec un coefficient de régression $r^2 = 0,91$.

	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Valeur critique de F
Régression	1	1376,52	1376,5	1003,2	2,8.10
Résidus	98	134,47	1,4		
Total	99	1510,99			

ANALYSE DE VARIANCE

Statistiques de la régression	
Coefficient de détermination multiple	0,95
Coefficient de détermination R ²	0,91
Coefficient de détermination R ²	0,91
Erreur-type	1,17
Observations	100

9.1.2 Les résultats du débit de filtration glomérulaire estimé

Le débit de filtration glomérulaire estimé (DFGe) a été déterminé par deux méthodes de dosage de la créatinine.

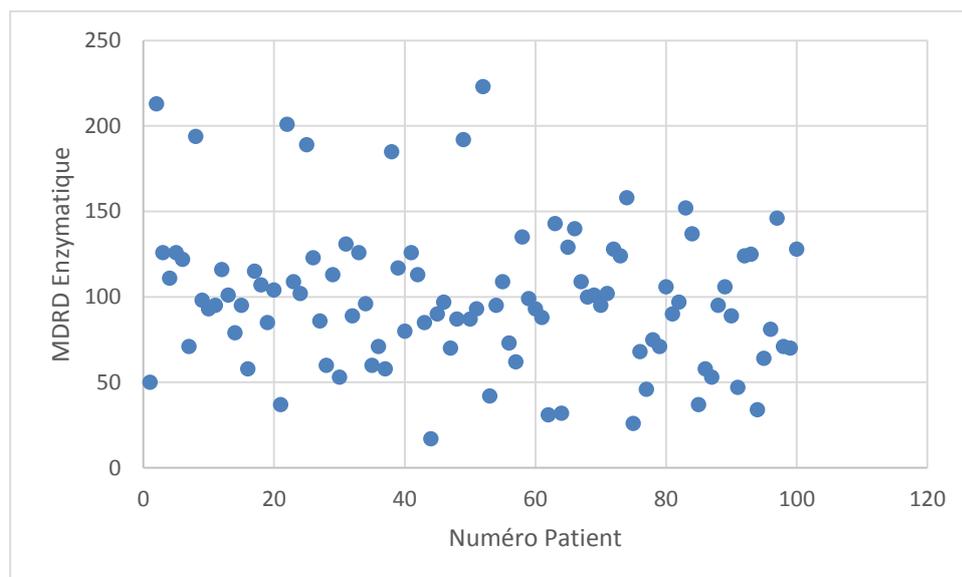


Figure 15 : Distribution du débit de filtration glomérulaire estime par la formule MDRD Enzymatique.

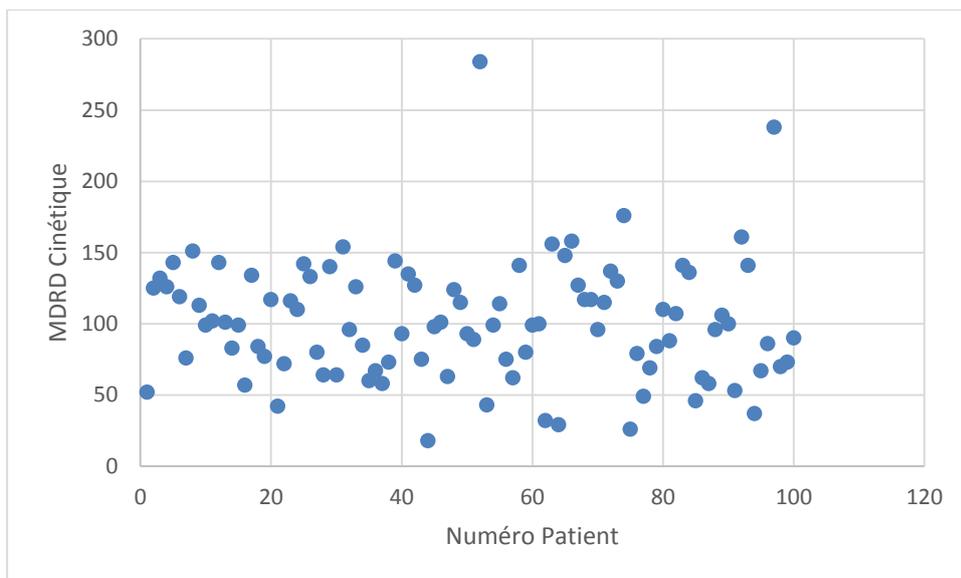


Figure 16 : Distribution du débit de filtration glomérulaire estime par la formule MDRD Cinétique.

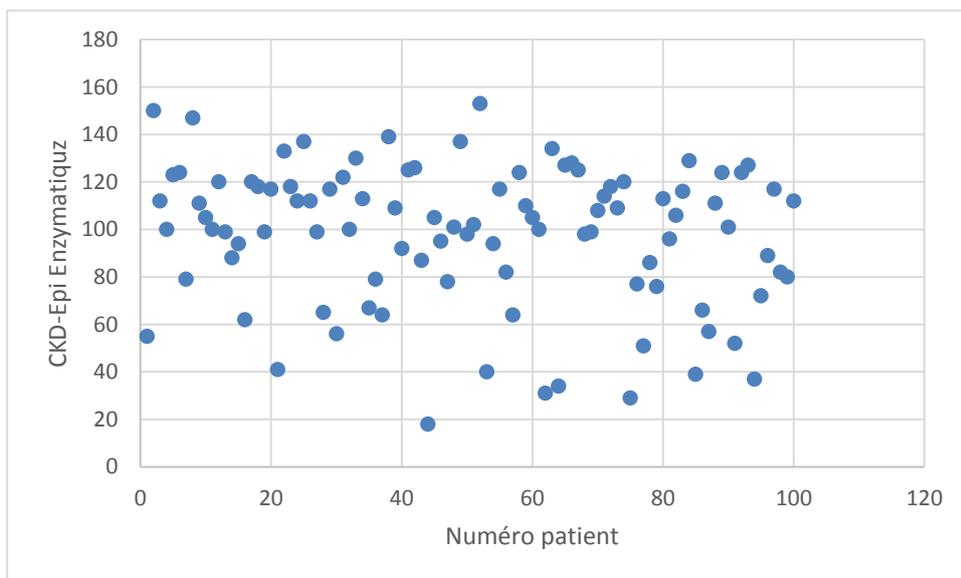


Figure 17 : Distribution du débit de filtration glomérulaire estime par la formule CKD-Epi Enzymatique.

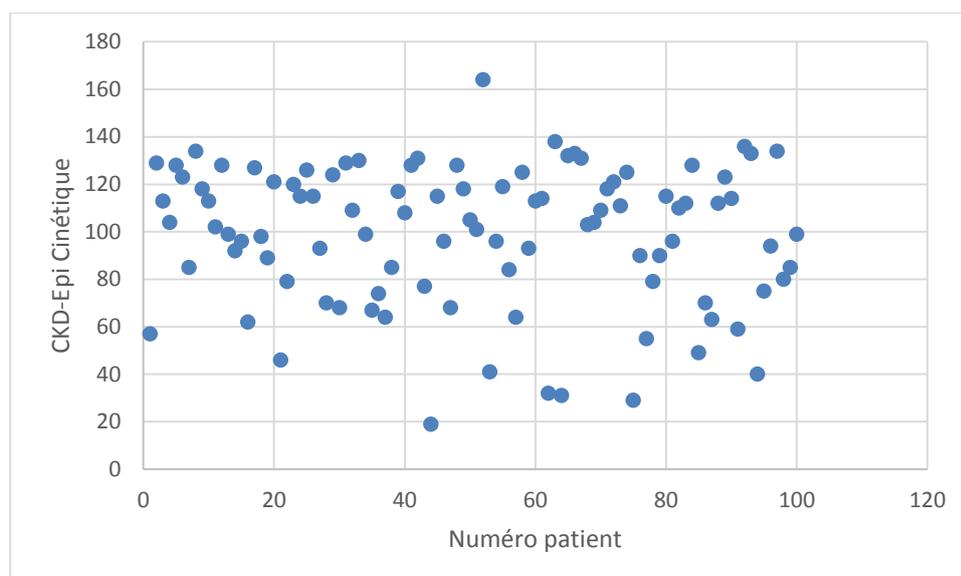


Figure 18 : Distribution du débit de filtration glomérulaire estime par la formule CKD-Epi Cinétique.

Le tableau suivant montre les résultats du débit de filtration glomérulaire estimé (DFG estimé) exprimé en ml/mn/1,73m² par les trois méthodes ; MDRD, CKD-Epi et Cockcroft-Gault.

La comparaison du débit de filtration glomérulaire utilisant les deux méthodes de dosage de la créatinine ne montre aucune différence.

Tableau 5 : Montre les résultats du débit de filtration glomérulaire estimé par les trois méthodes d'estimation utilisant les deux techniques de dosage de la créatinine. La technique de dosage de la créatinine ne modifie pas le résultat du DFG estimé pour les trois méthodes

	Moyenne	Ecart-type	t Test
MDRD Enz. vs Cin.	99,09/100,98	41,81/29,65	P= 0,74
CKD-Epi Enz. vs Cin.	98,03/99,13	29,65/29,23	p = 0,79
Cockcrof-Gault Enz. vs Cin.	123,82/125,9	53,9/54,6	P= 0,8

De même, la comparaison du débit de filtration glomérulaire estimé (DFG_e) par les deux méthodes MDRD et CKD-Epi ne montre également aucune différence selon qu'on utilise la créatinine enzymatique ou

cinétique comme le montre le tableau suivant. A l'opposé, il existe une surestimation du DFG par la méthode de Cockcroft-Gault comparé aux deux précédentes méthodes quelque soit la technique de dosage de la créatinine.

Tableau 6 : Résultats comparatifs du débit de filtration glomérulaire estimé les trois méthodes. Aucune différence n'est observée avec les méthodes MDRD et CKD-Epi aussi bien avec la créatinine dosée par la technique enzymatique que cinétique. Par contre la différence est nette avec ces deux méthodes comparée avec la méthode de Cockcroft-Gault.

	moyenne	Ecart-type	t Test
MDRD Enz. vs CKD-Epi Enz.	99,09 vs 98,03	41,08 vs 29,65	p= 0,83
MDRD Enz. vs CKD-Epi Cin.	99,09 vs 99,13	41,08 vs 29,23	P= 0,9
MDRD Enz. vs Cockcroft Enz.	99,09 vs 123,82	41,08 vs 53,9	P= 0,0003
MDRD Enz. vs Cockcroft Cin.	99,09 vs 125,9	41,08 vs 54,6	P= 0,0001
MDRD Cin.vs. CKD-Epi. Enz.	100,98 vs 98,03	41,83 vs 98,03	P= 0,6
MDRD Cin. vs CKD-Epi Cin.	100,98 vs 99,13	41,83 vs 99,13	P= 0,7
MDRD Cin. vs Cockcroft Enz.	100,98 vs 123,82	41,83 vs 123,82	P= 0,001
MDRD Cin. vs Cockcroft Cin.	100,98 vs 125,9	41,83 vs 125,9	P= 0,0004

CKD-Epi Enz. vs Cockcroft Enz.	98,03 vs 123,82	29,65	P= 0,00005
CKD-Epi Enz. vs Cockcroft Cin.	98,03 vs 125,9	29,65	P= 0,00001
CKD-Epi Cin. vs Cockcroft Enz.	99,13 123,82	29,3	P=00009
CKD-Epi Cin. vs Cockcroft Cin.	99,13 125,9	29,3	0,00003

10 Les résultats de la validation du dosage de l'iohexol

10.1 Résultats de linéarité

Nous rapportons dans le tableau ci-après les valeurs des concentrations calculées correspondant aux concentrations calculées pour les trois jours de validation.

Tableau 7 : Représente les Concentrations calculées de l'iohexol dans la gamme étalons à J1, J2 et J3

Concentration µmol/ml	J1	J2	J3
525,25	508,70	518,90	541,00
262,6	244,70	267,00	269,60
131,3	135,10	147,20	156,60
65,65	56,70	69,60	72,40
32,8	27,30	33,40	36,60
16,4	3,40	4,40	9,30

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence utilisant l'Iohexol comme marqueur dans la population algérienne

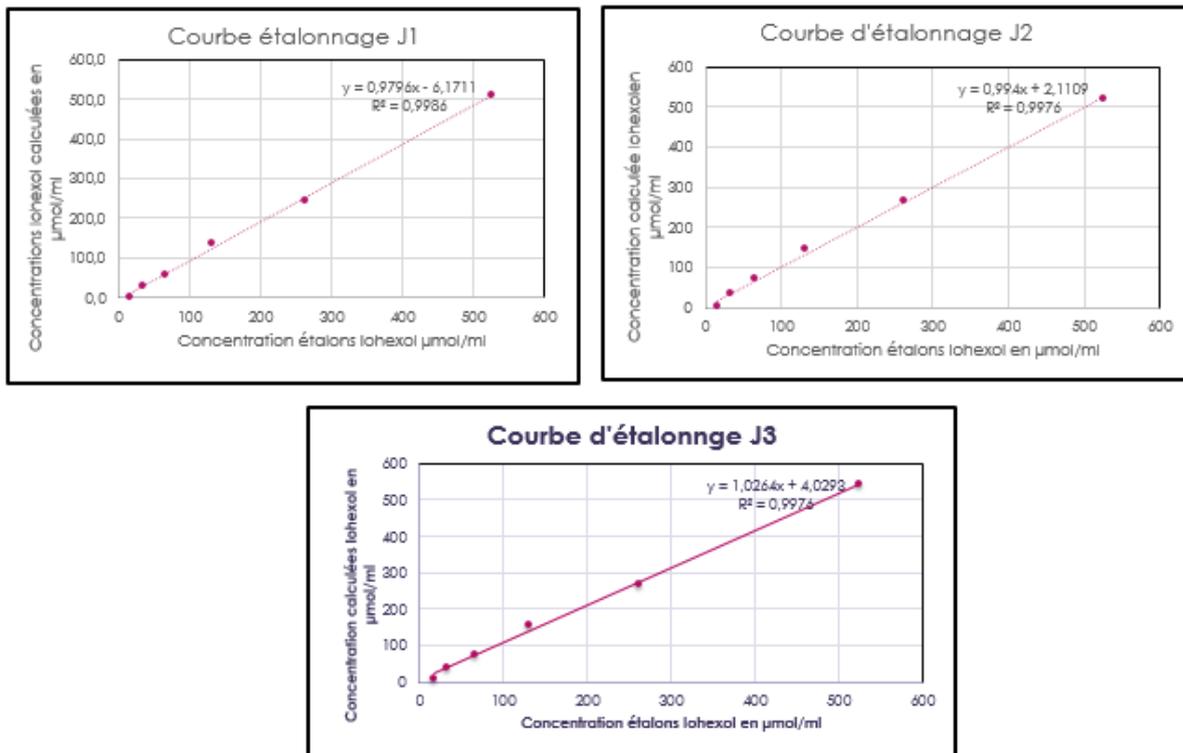


Figure 19 : Représente les courbes d'étalonnage pour les trois jours consécutifs

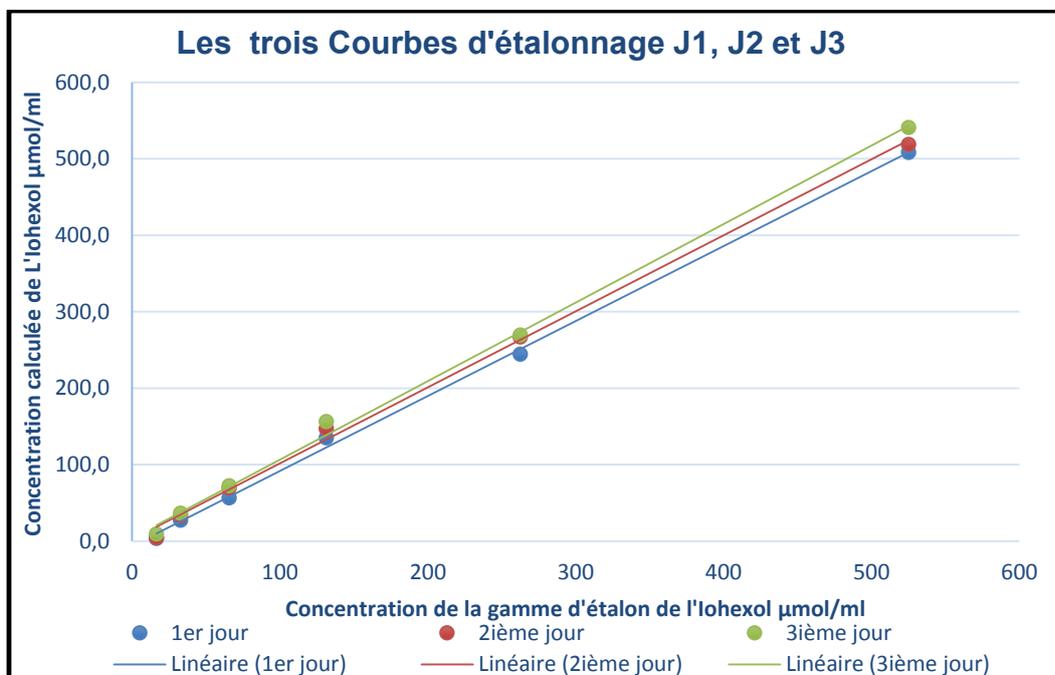


Figure 20 : Représente la Comparaison des trois courbes d'étalonnage de l'Iohexol dans le sérum dans le domaine de concentration allant de 16,4 - 32,8 - 65,65 - 131,3 - 262,6 et 525,25 $\mu\text{mo/ml}$.

Tableau 8 : Représente les pentes, les coefficients de corrélation et les ordonnées à l'origine des trois jours de validation.

	Premier jour	Deuxième jour	Troisième jour
Coefficient de corrélation	0,9986	0,9976	0,9976
Pente	0,9796	0,994	1,0264
Ordonnée à l'origine	- 6,1711	2,1109	4,0293

Tableau 9 : Concentration calculées moyennes des trois jours.

Concentrations étalons	Concentrations calculées
525,25	522,9
262,6	260,4
131,3	146,3
65,65	66,2
32,8	32,4
16,4	5,7

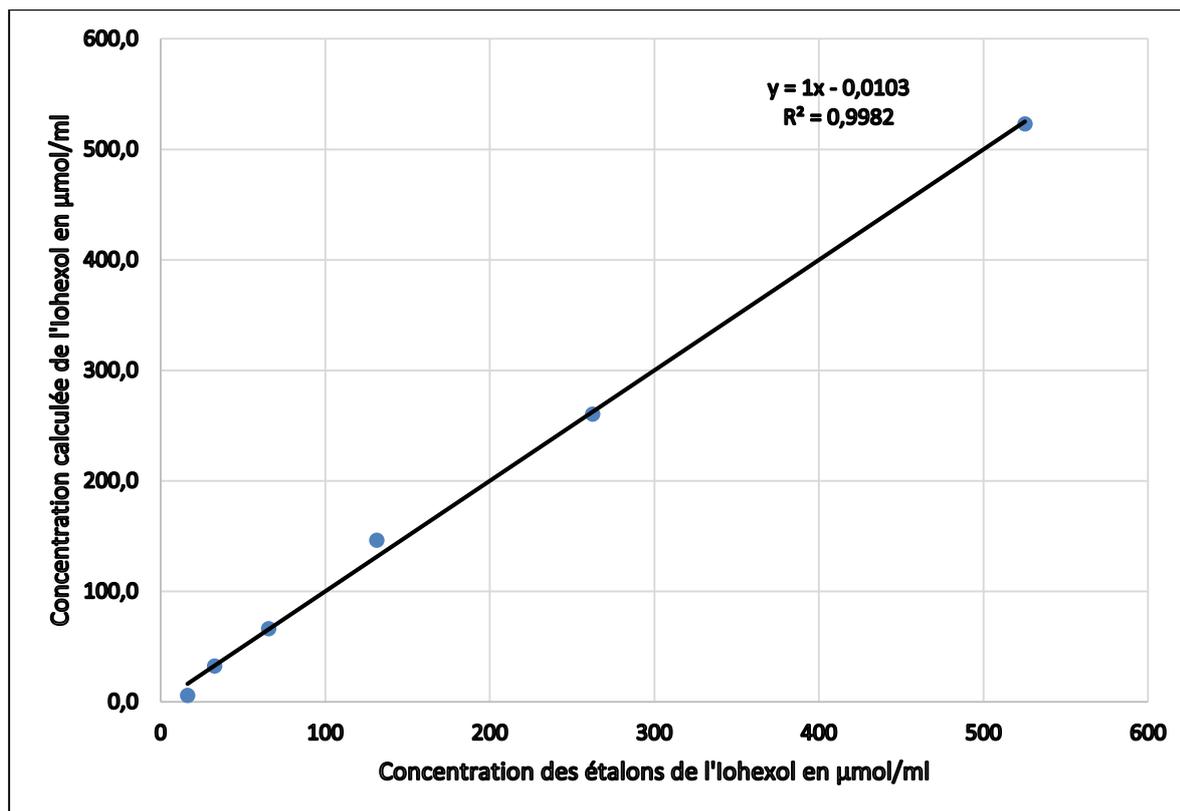


Figure 21 : Courbe moyenne d'étalonnage de l'iohexol dans du sérum.

Nous constatons que la courbe est linéaire dans le domaine de concentration allant de de 16 µmol/ml jusqu'à 525,25 µmol/ml avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9982$.

Nous relevons que la pente de cette courbe est de 1.

La linéarité est excellente avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9982$ et le coefficient de régression linéaire $r^2 = 0,9957$

L'analyse statistique par régression linéaire a donné les résultats suivant :

RAPPORT DÉTAILLÉ	
<i>Statistiques de la régression</i>	
Coefficient de détermination multiple	0,9979
Coefficient de détermination R^2	0,9958
Coefficient de détermination R^2	0,9957
Erreur-type	12,2438
Observations	18

Tableau 10 : Représente les résultats de l'analyse statistique des analyses réalisées sur trois jours consécutifs. Le test de Fisher retrouve un facteur $F = 3774,1$ supérieur à la valeur critique de F . p value à très significative à 2.10^{-20} On peut dire que le modèle de régression est linéaire et prédictif dans l'intervalle de confiance à 95%

	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Valeur critique de F
Régression	1	568611,5	568611,5	3774,1	2.10^{-20}
Résidus	16	2410,6	150,7		
Total	17	571022,1			

ANALYSE DE VARIANCE

Etude de l'existence d'une pente significative :

Tableau 11 : représente le coefficient directeur de la droite d'étalonnage ici égal à 1 et l'erreur type correspondant à l'écart-type qui servira à calculer la LDM et la LQM.

	Coefficients	Erreur-type	Statistique t	Probabilité
Constante	0,02	4,03	0,004	1,00
Variable X 1	1,00	0,02	61,43	2.10^{-20}

Représentation graphique des résidus :

La figure ci-dessous représente les résidus sous forme d'un graphique. En cas de linéarité, les points obtenus doivent se répartir de façon aléatoire autour du zéro. Dans le domaine de notre calibration, les valeurs des résidus se **répartissent** de façon aléatoire.

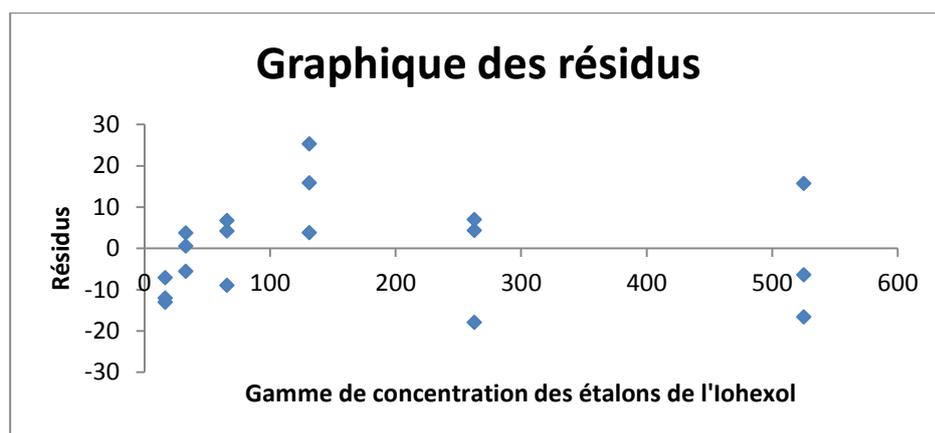


Figure 22 : Représentation graphique des résidus.

La limite de détection d'une méthode (LDM) : correspond à la concentration de l'iohexol au-dessous de laquelle l'iohexol n'est pas détecté, elle a été déterminée par la formule suivante $3 \times \text{écart-type} / \text{pente}$

Ecart-type est égale à 4,03

La pente égale à 1

$$\text{LDM égale à } \frac{3 \times ET}{Pente} = \frac{3 \times 4,03}{1} = 12,09 \mu\text{mol/ml}$$

La concentration à partir de laquelle l'iohexol est détecté correspond à la limite de détection LDM égal à 12,09 $\mu\text{mol/ml}$

La limite de quantification d'une méthode (LQM) : correspond à la concentration de l'iohexol à partir de laquelle l'iohexol est quantifié, elle a été déterminée par la formule suivante $10 \times \text{écart-type} / \text{pente}$.

$$\text{LQM égale à } \frac{10 \times ET}{Pente} = \frac{10 \times 4,03}{1} = 40,3 \mu\text{mol/ml}$$

En dessous de cette concentration les résultats de l'analyse sont incohérents.

10.2 Résultats de la justesse :

10.2.1 Recouvrement et recouvrement moyen :

Tableau 12 : représente le Recouvrement qui se trouve dans les fourchettes de validités sauf pour le concentration 16,4 $\mu\text{mol/ml}$

Conc. Iohexol Introduite ($\mu\text{mol/ml}$)	Conc. Iohexol Calculée ($\mu\text{mol/ml}$)	μ_i (Moyenne des concentrations de l'iohexol calculées) ($\mu\text{mol/ml}$)	R(%) _i (Recouvrement)	Limite d'acceptation
525,5	526,0 525,5 524,0 515,9 520,6 521,0 522,0 522,7 521,1 518,4	521,7	99,30%	
262,6	268,5 268,6 268,7 272,0 272,2 271,9 272,1 271,9	270,9	103,60%	

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence utilisant l'Iohexol comme marqueur dans la population algérienne

	271,7			
	271,1			
131,3	129,9			
	130,0			
	130,2			
	128,5			
	129,8	129,4	98,50%	(85 -115%)
	129,6			
	129,5			
	129,0			
	128,7			
	128,6			
65,65	64,7			
	64,8			
	63,8			
	64,6			
	64,7	64,4	98,20%	
	63,7			
	64,7			
	64,5			
	64,7			
	64,4			
	35,6			
	35,1			
	35,1			
	34,9			

32,8	36,2	35,2	107,20%	
	35,3			
	35,2			
	34,9			
	34,8			
	34,5			
16,4	10,5			
	13,0			
	12,6			
	13,0			
	13,0	12,4	75,60%	
	12,0			
	11,9			
	12,4			
	13,0			
	12,7			

Graphique des recouvrements :

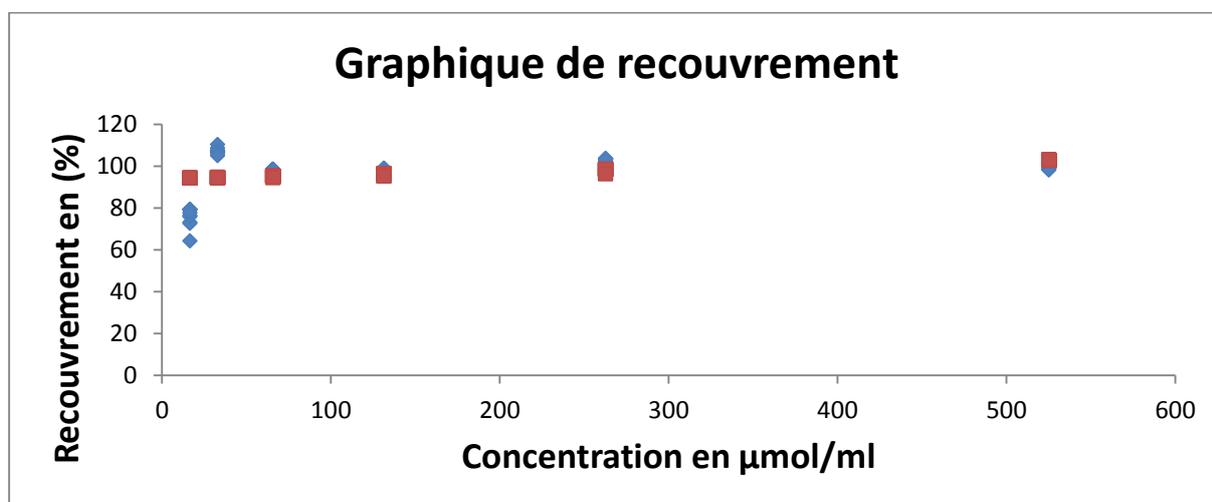


Figure 23 : Graphique des recouvrements.

Nous constatons que le recouvrement est conforme aux exigences de la validation des procédures analytiques. Nous pouvons voir clairement que toutes les valeurs individuelles ne dépassent pas les limites fixées (85 à 115%) sauf pour la concentration de 16 $\mu\text{mol/ml}$ qui se trouve dans la limite de quantification.

10.2.2 Biais absolu et biais relatif :

Sa valeur cible est de 0 (la concentration calculée est égale à la concentration introduite)

La limite d'acceptabilité fixée : 15%.

Le tableau ci-dessous représente les données ayant servies pour le calcul des biais

Tableau 13 : Représente le biais absolu et relatif

Xi : Conc. Introduite ($\mu\text{mol/ml}$)	μ_i : Conc. Calculées ($\mu\text{mol/ml}$)	m (Moyenne des conc. Calculées) ($\mu\text{mol/ml}$)	Bi (Biais absolu)	B (%)i (Biais relatif)	Limite d'acceptation
525,5	526,0	521,7	3,5	0,7%	
	525,5				
	524,0				
	515,9				
	520,6				
	521,0				
	522,0				
	522,7				
	521,1				
	518,4				
	268,5				
	268,6				

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence utilisant l'Iohexol comme marqueur dans la population algérienne

262,6	268,7	270,9	-8,3	-3,1%	
	272,0				
	272,2				
	271,9				
	272,1				
	271,9				
	271,7				
	271,1				
131,3	129,9	129,4	1,9	1,4%	(<15%)
	130,0				
	130,2				
	128,5				
	129,8				
	129,6				
	129,5				
	129,0				
	128,7				
128,6					
65,65	64,7	64,4	1,2	1,8%	
	64,8				
	63,8				
	64,6				
	64,7				
	63,7				
	64,7				
	64,5				

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence utilisant l'Iohexol comme marqueur dans la population algérienne

	64,7				
	64,4				
32,8	35,6				
	35,1				
	35,1				
	34,9				
	36,2				
	35,3	35,2	-2,4	-7,2%	
	35,2				
	34,9				
	34,8				
	34,5				
16,4	10,5				
	13,0				
	12,6				
	13,0				
	13,0	12,4	4,0	24,2%	
	12,0				
	11,9				
	12,4				
	13,0				
	12,7				

10.3 Résultats de la fidélité :

10.3.1 Répétabilité intra-jour

Tableau 14 : Représente la répétabilité intra-jour de la concentration calculée des six solutions de l'iohexol 300mg/ml d'iode de la gamme de calibration utilisées pour la courbe d'étalonnage.

Concentrations Calculées ($\mu\text{mol/ml}$)	Moyenne concentrations calculées ($\mu\text{mol/ml}$)	Ecart-type	Coefficient de variation
526,0	521,73	3,1	0,6 %
525,5			
524,0			
515,9			
520,6			
521,0			
522,0			
522,7			
521,1			
518,4			
268,5			
268,6			
268,7			
272,0			
272,2			

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence utilisant l'iohexol comme marqueur dans la population algérienne

271,9	270,86	1,6	0,6 %
272,1			
271,9			
271,7			
271,1			
129,9			
130,0			
130,2			
128,5			
129,8	129,38	0,6	0,5 %
129,6			
129,5			
129,0			
128,7			
128,6			
64,7			
64,8			
63,8			
64,6			
64,7	64,44	0,4	0,6 %
63,7			
64,7			

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence utilisant l'iohexol comme marqueur dans la population algérienne

64,5			
64,7			
64,4			
35,6			
35,1			
35,1			
34,9			
36,2	35,17	0,5	1,4 %
35,3			
35,2			
34,9			
34,8			
34,5			
10,5			
13,0			
12,6			
13,0			
13,0			
12,0	12,4	0,8	6,2 %
11,9			
12,4			
13,0			

12,7			
------	--	--	--

La répétabilité du même jour est excellente avec un coefficient de variation inférieur à 5 % pour les concentrations supérieures ou égales à 32,8 µmol/ml. Il est de 6,2 % pour la concentration de 16,4 µmol/ml.

Tableau 15 : Représente les résultats statistiques par analyse de variance à un facteur

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	9,89355 x10 ¹¹	7	1,41336 x 10 ¹¹	16,7	9,0 x 10 ⁻¹⁸	2,05
A l'intérieur des groupes	1,92523 x 10 ¹²	228	8444012310			
Total	2,91459 x 10 ⁺¹²	235				

L'analyse de variance montre que la probabilité de variation de l'absorbance et de la concentration calculée en intragroupe et en inter groupe est très faible avec une P value à 9 x 10⁻¹⁸. Le facteur F de Fisher égal à 16,7 est supérieur à la valeur critique de F qui est de 2,05.

10.3.2 Répétabilité inter-jour :

La répétabilité des six solutions de calibration de l'iohexol préparées dans du sérum humain ont été soumises à des analyses pendant trois jours dans les mêmes conditions, appareillage, opérateur et les solutions de la phase mobile.

Tableau 16 : Représente la répétabilité de de la concentration calculée des six gammes de calibration de l'iohexol d'Iode réalisées sur trois jours.

	Répétabilité inter jour	525,5 μmol/ ml	262,6 μmol/ ml	131,3 μmol/ ml	65,65 μmol/ ml	32,8 μmol/ml	16,4 μmol/ ml
C. calculée	J1	521,5	264,1	145,1	67	32,3	4,2
C. calculée	J2	523,4	258,8	148,7	66,6	31,7	5,1
C. calculée	J3	523,2	257,4	151,5	68,9	29,4	3,8
	Moyenne	522,7	260,1	148,4	67,5	31,1	4,4
	Ecart-type	1,01	3,5	3,2	1,2	1,5	0,7
	CV inter groupe	0,2 %	1,4 %	2,2 %	1,2%	4,9 %	15 %

Tableau 17 : Représente les résultats statistiques de l'analyse de variance de la concentration calculée.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique de F
Inter groupe	570549,3	5	114109,0	243577	$1,3 \times 10^{-23}$	3,1
Intra groupe	57,2	12				
Total		17				

Le coefficient de variation de la concentration calculée est inférieur à 5 % pour toutes les gammes de concentration de l'iohexol sauf pour la concentration de 16,4 $\mu\text{mol/ml}$, cette concentration se trouve proche de la limite de quantification.

L'analyse de variance à un facteur de la concentration calculée des six solutions de calibration de l'iohexol réalisée sur trois jours montre un facteur F à 243577 supérieur au facteur critique de F qui est de 3,1. La probabilité de variation de la concentration calculée en intra groupe et en inter groupe sur trois jours est très faible avec un P value de $1,3 \times 10^{-23}$.

10.4 Le profil d'exactitude de la méthode de dosage de l'iohexol dans le plasma par HPLC.

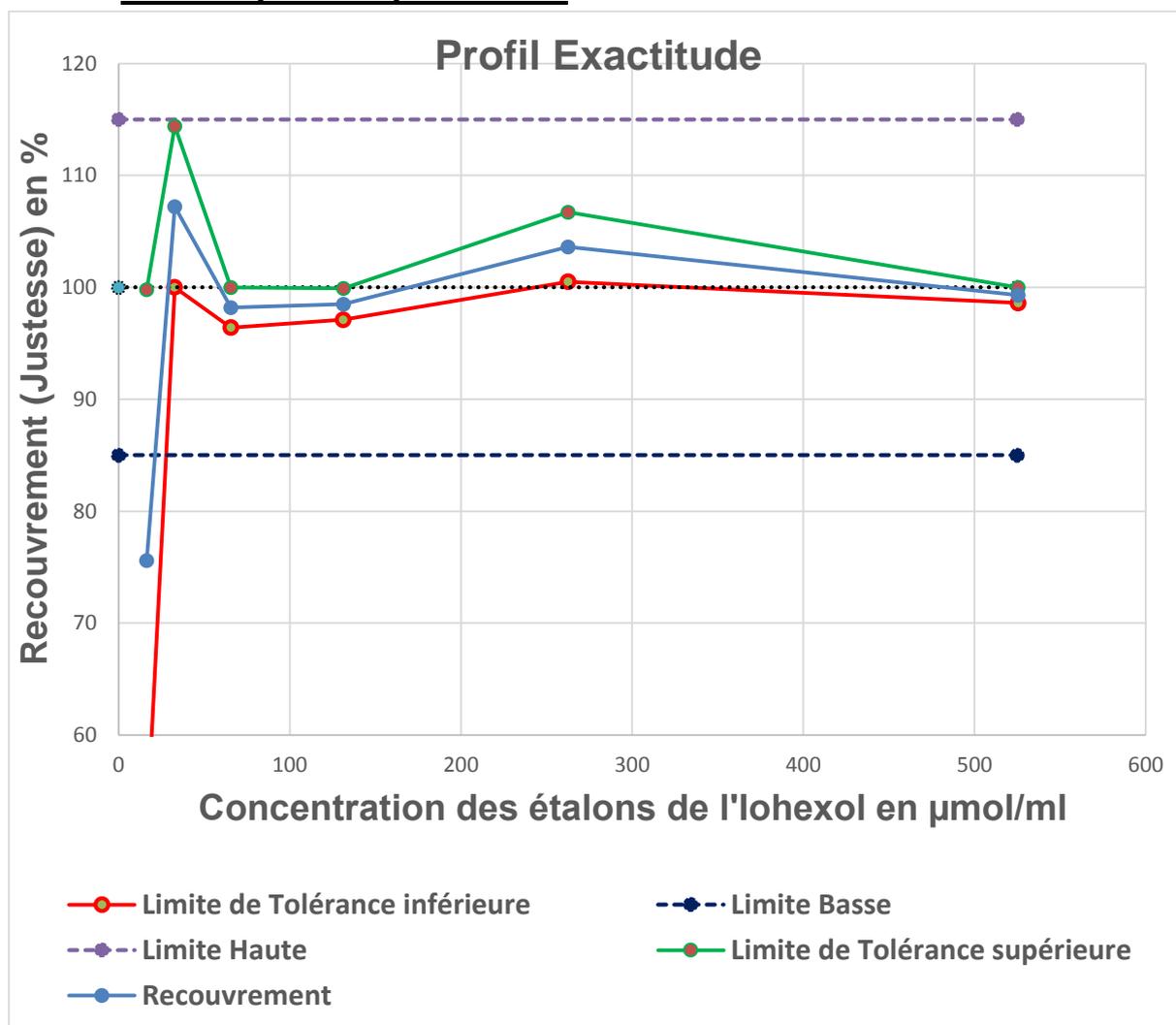


Figure 24 : Profil exactitude : recouvrement des six gammes étalons de l'iohexol.

Les intervalles de tolérance de tous les étalons sont inclus dans les limites $\pm 15\%$ (85-115%).

La méthode peut être considérée comme exacte.

10.5 Performance de la méthode de dosage de l'iohexol par HPLC

Les performances analytiques de la méthode de Krutzen (1) sont résumées ci-dessous :

Tableau 18 : Représente les Performances analytiques de de la technique de dosage de l'iohexol par la méthode de Krutzen (1)

Critères de validation	Performances
Linéarité	
Equation de la droite	$y = 1x - 0,0103,$
Coefficient de corrélation	$R^2 = 0,9982$
Coefficient de régression	$r^2 = 0,9957$
Justesse	
Moyenne de recouvrements (%)	525,5 $\mu\text{mol/ml}$: 99,3% 262,6 $\mu\text{mol/ml}$: 103,6% 131,3 $\mu\text{mol/ml}$: 98,5% 65,65 $\mu\text{mol/ml}$: 98,2% 32,8 $\mu\text{mol/ml}$: 107,2% 16,4 $\mu\text{mol/ml}$: 75,6%
Intervalle d'acceptation	[85 ; 115]

10.6 Résultats du contrôle interne

Trois contrôles internes C₁, C₂ et C₃ ont été intégrés dans chaque série en début et fin de chaque série

Les valeurs des séries de contrôles utilisés sont relevées dans le tableau suivant :

Tableau 19 : Représente les résultats du Contrôle interne du dosage de l'Iohexol

	M ± ET	M ± 2ET	M ± 3ET
C1 µmol/ml	304 - 340	286 - 358	268 - 376
C2 µmol/ml	163 - 215	137 - 241	111 - 267
C3 µmol/ml	72 - 82	67 - 87	62 - 92

11 Comparaison entre débit de filtration glomérulaire mesuré (DFGm) et le débit de filtration glomérulaire estimé (DFGe) par les trois méthodes utilisant deux types de dosage de la créatinine

Il est établi que l'application des formules d'estimation du débit de filtration glomérulaire notamment les formules MDRD et CKD-Epi nécessite l'utilisation d'une créatinine déterminée par la méthode enzymatique et que celle-ci soit traçable en IDMS.

L'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) par les deux méthodes de dosage de la créatinine dans ce travail avait pour objectif d'apporter une réponse à la situation où le dosage par la méthode enzymatique n'est pas toujours possible et que seul le dosage par la méthode de Jaffé cinétique traçable en IDMS est disponible et répandu et de proposer une solution de remplacement.

De plus, la multitude de facteurs de correction basés sur l'ethnie devient un souci pour savoir lequel de ces facteurs qui soit le plus approprié à notre population pour avoir une meilleure estimation du DFG.

Une comparaison de toutes les estimations avec les différents facteurs ethniques disponible a été réalisée dans ce travail afin d'apporter une réponse sur le facteur ethnique actuellement disponible qui soit applicable à notre population.

L'évaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire est bien codifiée. Les sociétés savantes proposent un protocole bien défini, Celui-ci est basé sur :

La comparaison des méthodes d'estimation du DFG avec une méthode de référence de mesure du DFG ;

La détermination du biais qui est la moyenne des différences entre les deux méthodes ;

Etude de corrélation entre la méthode de mesure du DFG et la méthode d'estimation du DFG et de déterminer coefficient de régression r^2 .

L'étude de la concordance par la méthode de Bland-Altman ;

L'estimation de l'exactitude P10 et P 30 qui consiste à déterminer le pourcentage de valeurs du DFG estimé se trouvant dans la fourchette $DFGm \pm 10$ et $\pm 30 \text{ml/mn}/1,73\text{m}^2$ respectivement.

Comparaison statistique entre les méthodes de mesure du débit de filtration glomérulaire (DFGm) et les méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFGe) :

L'injection de l'iohexol chez nos patients n'a provoqué aucun incident ni accident, il n'y a pas eu non plus de modification de fonction rénale.

Tableau 20 : Présente les résultats du biais moyen et l'exactitude à 10% (P10) et l'exactitude à 30% (P30) entre le DFGm et les différentes méthodes d'estimation (MDRD, CKD-Epi et Cockcroft) avec la créatinine mesurée par la technique enzymatique et cinétique de la population étudiée.

	Moyenne± ET	Biais moyen± ET	Exactitude à 10%	Exactitu de à 30%	t Test
	ml/mn/1,73 m²	ml/mn/1,73 m²	P 10	P 30	
DFGm	88,29 ± 27,70				
MDRD	Créat Enz 99,09 ± 41,81	10,8 ±34,58	47%	76%	p= 0,03
	Créat Cin 100,98± 29,65	12,69 ± 35,2	38%	69%	p=0,01
CKD- Epi	Créat Enz 98,03 ± 29,65	9,72 ± 20,21	40%±	81%	p=0,02
	Créat Cin 99,13 ± 2923	10,86 ± 25,15	34%	76%	p=0,008
Cockc roft	Créat Enz. 123,82 ± 53,9	35,53 ± 45,40	24%	57%	p=3.10⁻⁸
	Créat Cin 125,9 ± 54,6	37,61 ± 46,40	16%	52%	p=7.10⁻⁹

11.1 DFGm VS MDRD Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 21 : Comparaison du DFGm VS MDRD Enz. par le test t de Student, montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 0,03.

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD enz
Moyenne	88,29	99,09
Variance	778,0	1687,7
Observations	100	100
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	174	
Statistique t	-2,2	
P(T<=t) unilatéral	0,015	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,03	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,97	

11.2 DFGm VS MDRD Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 22 : Comparaison du DFGm VS MDRD Cin. par le test t de Student, montre une différence significative entre les deux méthodes, une P value à 0,01.

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD Cin
Moyenne	88,29	100,98
Variance	778,00596	1749,93899
Observations	100	100
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	173	
Statistique t	-2,5	
P(T<=t) unilatéral	0,006	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,01	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,97	

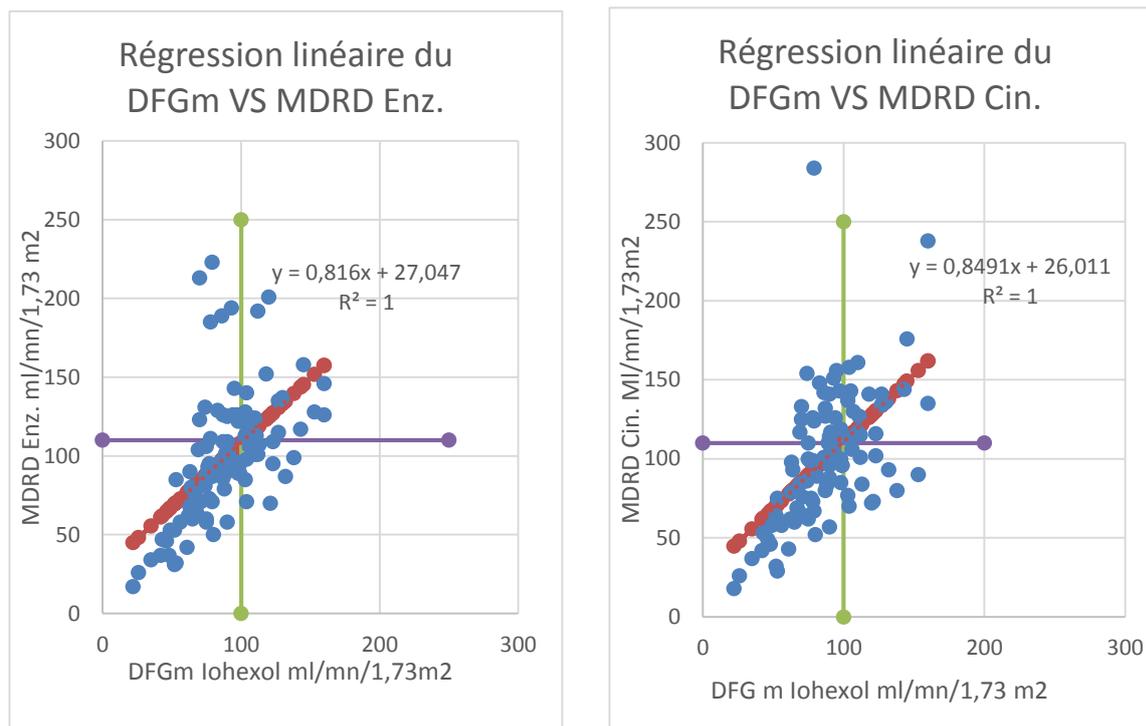


Figure 25 : Régression linéaire du DFGm VS MDRD, qui montre une surestimation du DFG de $10,8 \pm 34,58$ ml/mn/1,73m² et pour le MDRD enzymatique et une surestimation du DFG de $12 \pm 35,2$ ml/mn/1,73m² pour le MDRD cinétique avec un coefficient de régression $r^2 = 0,3$ dans les deux cas.

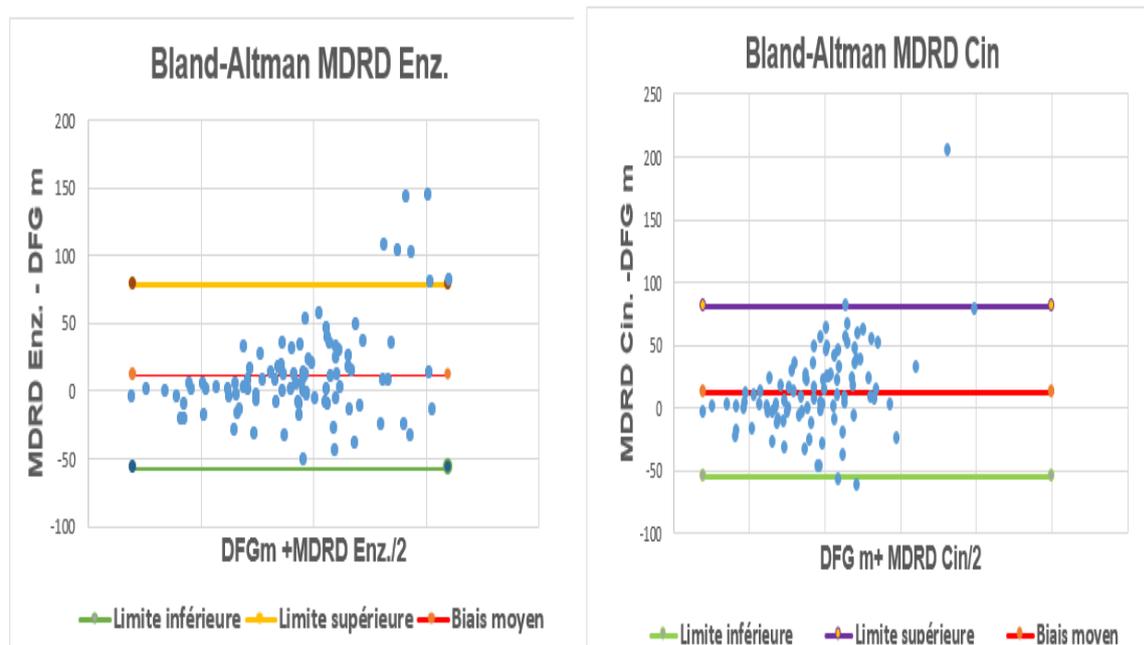


Figure 26 : Concordance entre DFGm et MDRD (enzymatique et cinétique) évaluée par la méthode Bland-Altman représentant la distribution des valeurs autour du du biais dans un intervalle de confiance de 95%.

11.3 DFGm VS CKD-Epi Enz:

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 23 : Comparaison du DFGm VS CKD-Epi Enz., le test t de Student, qui montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 0,02.

	DFG (ml/Mn/1,73)	CKD-Epi enz
Moyenne	88,29	98,03
Variance	778,01	879,1
Observations	100	100
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	197	
Statistique t	-2,39	

P(T<=t) unilatéral	0,01	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,65	
P(T<=t) bilatéral	0,02	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,97	

11.4 DFGm VS CKD-Epi Cin :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 24 : Comparaison du DFGm VS CKD-Epi Cin., le test t de Student qui montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 0,008.

	<i>DFG (ml/Mn/1,73)</i>	<i>CKD-Epi cin</i>
Moyenne	88,29	99,13
Variance	778,01	854,66
Observations	100	100
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	198	
Statistique t	-2,7	
P(T<=t) unilatéral	0,004	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,008	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,97	

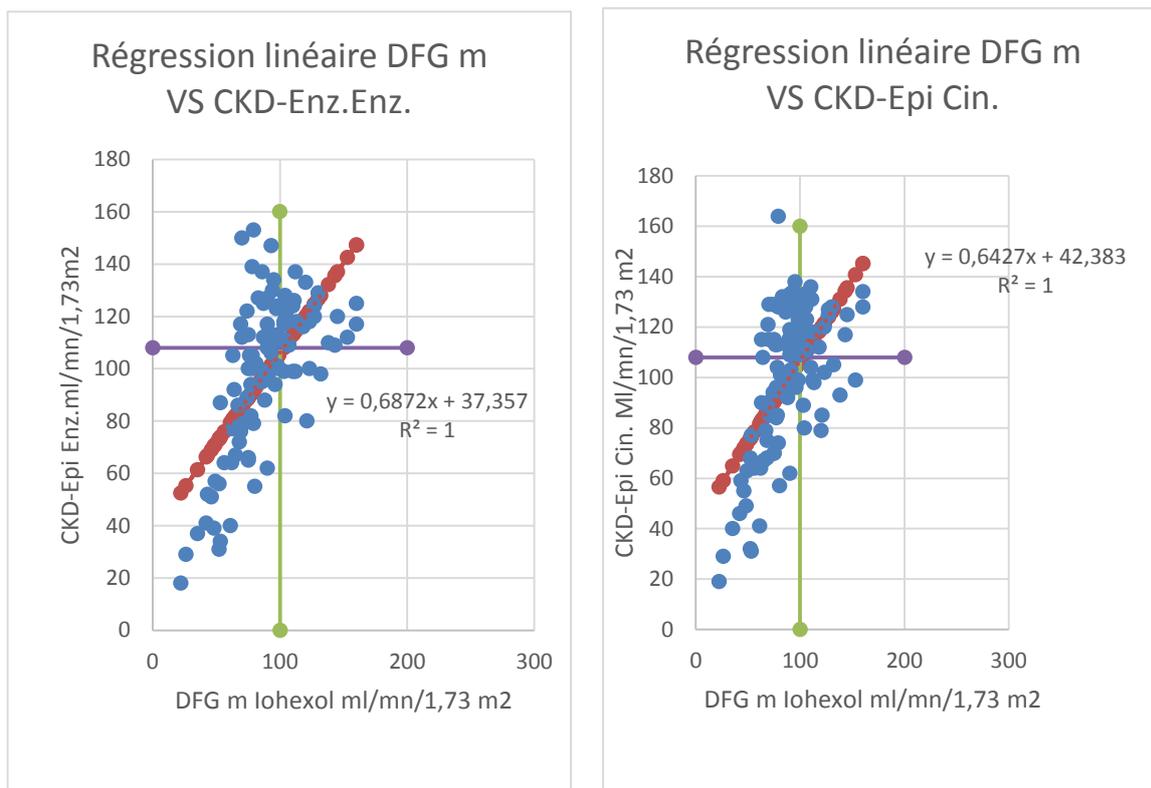


Figure 27 : Régression linéaire du DFGm VS CKD-Epi, montre une surestimation du DFG de $9,72 \pm 20,21$ ml/mn/1,73m² pour le CKD-Epi enzymatique et une surestimation de $10,86 \pm 25,15$ ml/mn/1,73m² pour le CKD-Epi cinétique, le coefficient de régression $r^2 = 0,4$ dans les deux cas.

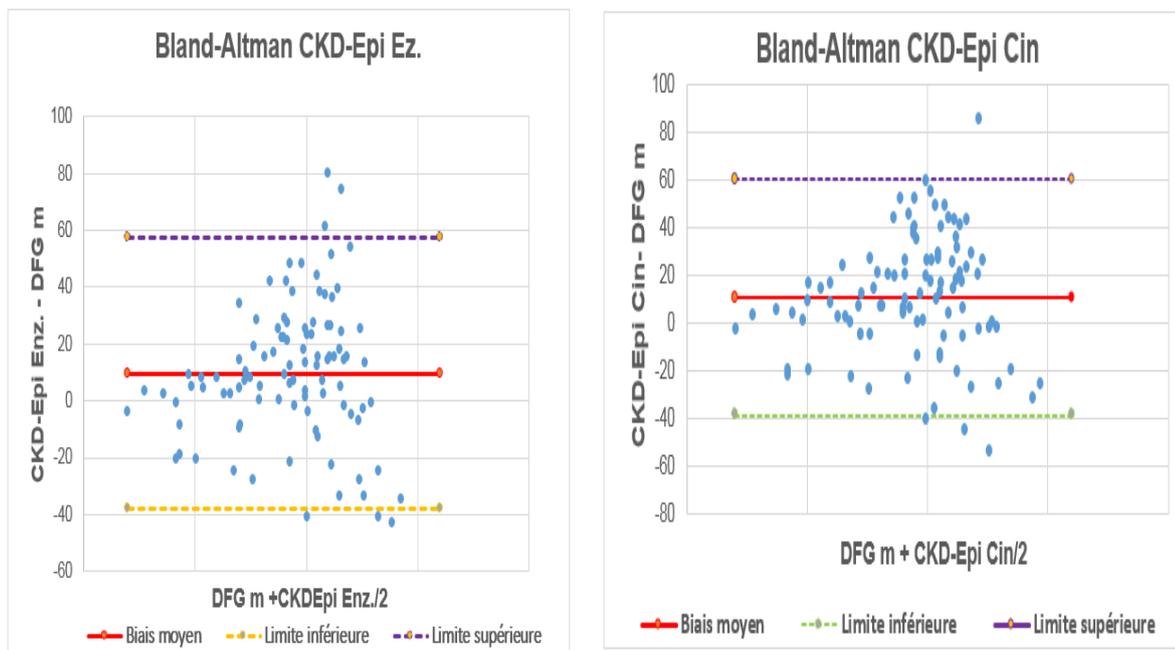


Figure 28 : Concordance entre DFGm et CKD-Epi (enzymatique et cinétique) évaluée par la méthode Bland-Altman représentant la distribution des valeurs autour du du biais dans un intervalle de confiance de 95%.

11.5 DFGm VS Cockcroft Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 25 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., le test t de Student, qui montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 3.10^{-8} .

	DFG (ml/Mn/1,73)	Cockcroft Enz.
Moyenne	88,29	123,8
Variance	778,0	2905,7
Observations	100	100
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	148	
Statistique t	-5,9	
P(T<=t) unilatéral	0,000000015	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,00000003	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.6 DFGm VS Cockcroft Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 26 : Comparaison du DFGm VS CKD- Cockcroft Cin., par le test t de Student qui montre une différence significative entre les deux méthodes, avec une P value à 7.10^{-9} .

	DFG (ml/Mn/1,73)	Cockcroft Cin
Moyenne	88,29	125,9
Variance	778,0	2976,6
Observations	100	100
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	147	
Statistique t	-6,1	
P(T<=t) unilatéral	$3,7.10^{-09}$	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,000000007	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

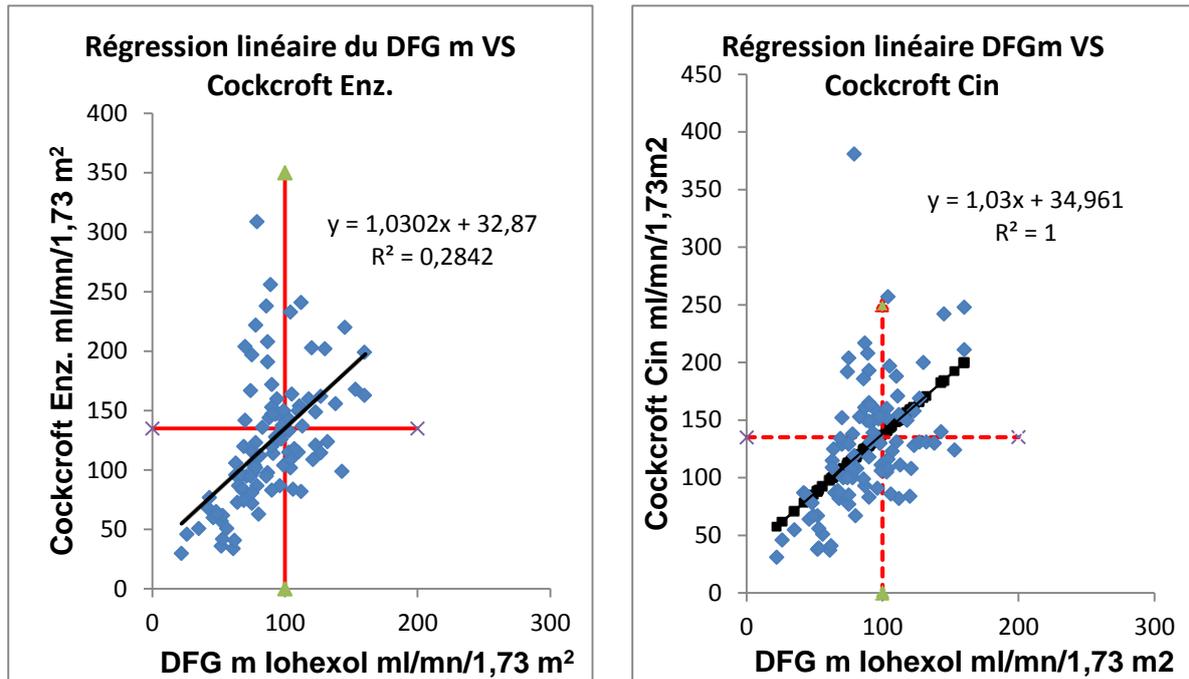


Figure 29 : Régression linéaire du DFGm VS Cockcroft, montre une surestimation du DFG de $35,53 \pm 45,40$ ml/mn/1,73m² pour le Cockcroft Enzymatique et $37,61 \pm 46,40$ ml/mn/1,73m² pour le Cockcroft cinétique. Le coefficient de régression $r^2 = 0,3$ dans les deux cas.

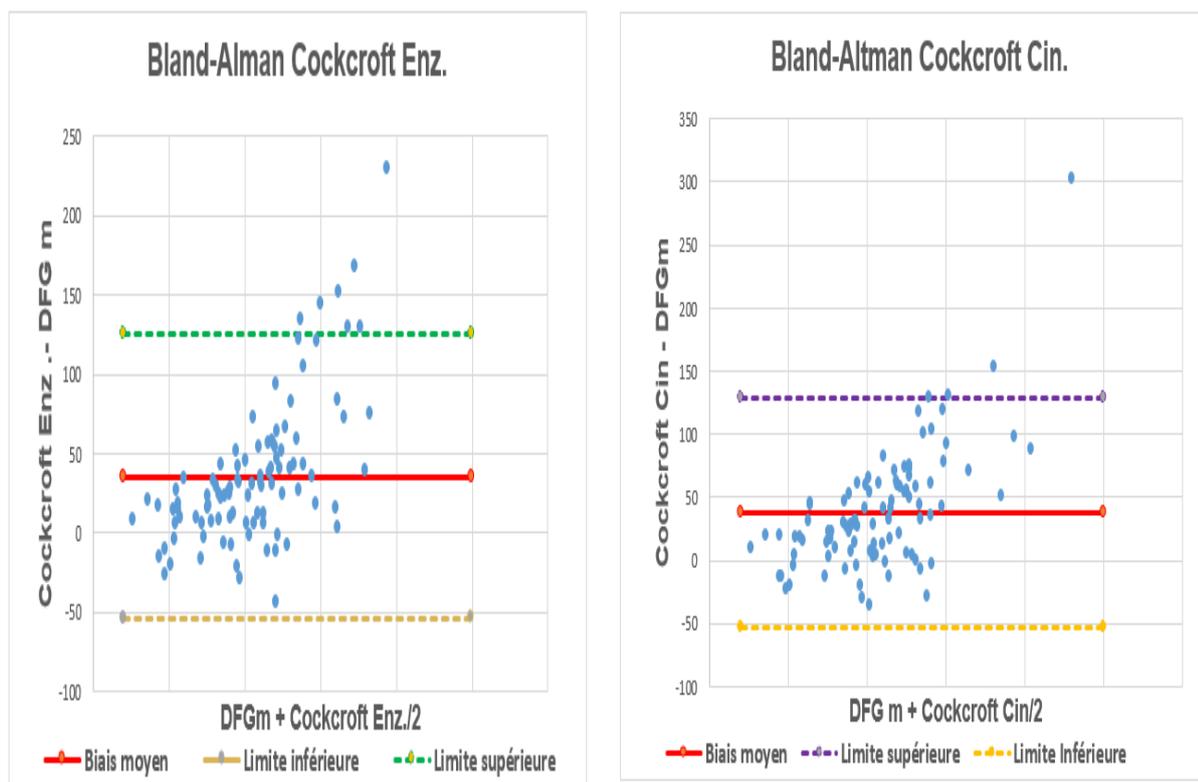


Figure 30 : Concordance entre DFGm et Cockcroft (enzymatique et cinétique) évaluée par la méthode Bland-Altman représentant la distribution des valeurs autour du du biais dans un intervalle de confiance de 95%.

11.7 Facteurs pouvant influencer le débit de filtration glomérulaire

Un certain nombre de facteurs sont décrits dans la littérature comme des facteurs pouvant influencer le débit de filtration glomérulaire parmi lesquels on peut citer l'indice de masse corporelle (BMI), le niveau de la fonction rénale et le facteur ethnique.

Ce chapitre a pour objectif d'apporter une réponse claire en étudiant tous ces facteurs.

11.7.1 L'indice de masse corporelle :

11.7.1.1 BMI supérieur à 25 Kg/m² :

- Nombre de patients : 58 (H : 23, F: 35)
- Age moyen : 45,03 ans ± 11,5

Tableau 27 : Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et à 30% (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la sous population avec BMI supérieur à 25 Kg/m².

	Moyenne ± ET	Biais moyen ± ET	P10	P30	t Test
DFGm	85,3 ± 31,0				
MDRD Enz.	88,4 ± 37,0	3,1 ± 29,3	48%	74%	p=0,62 NS
MDRD Cin.	95,4 ± 46,7	10,0 ± 39,3	36%	69%	p=0,2 NS
CKD-Epi Enz.	90,3 ± 29,5	4,9 ± 24,0	38%	81%	p=0,4 NS
CKD-Epi Cin.	93,0 ± 30,0	7,7 ± 25,7	34,5%	81%	p=0,2 NS
Cockcroft Enz.	123,4 ± 56,1	38,1 ± 45	24%	55%	p=0,00002
Cockcroft Cin.	130,3 ± 62,4	45,0 ± 52,6	19%	50%	p=0,000004

11.7.1.1.1 DFGm vs MDRD Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 28 : Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² ne montre aucune différence une p value à 0,62.

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD enz
Moyenne	85,3	88,4
Variance	956,4	1351,1
Observations	58	58
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	111	
Statistique t	-0,5	
P(T<=t) unilatéral	0,31	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,62	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.7.1.1.2 DFGm vs MDRD Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 29 : Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² avec une p value à 0,2.

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD cin
Moyenne	85,3	95,4
Variance	956,4	2180,7
Observations	58	58
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	99	
Statistique t	-1,4	
P(T<=t) unilatéral	0,1	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,2	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

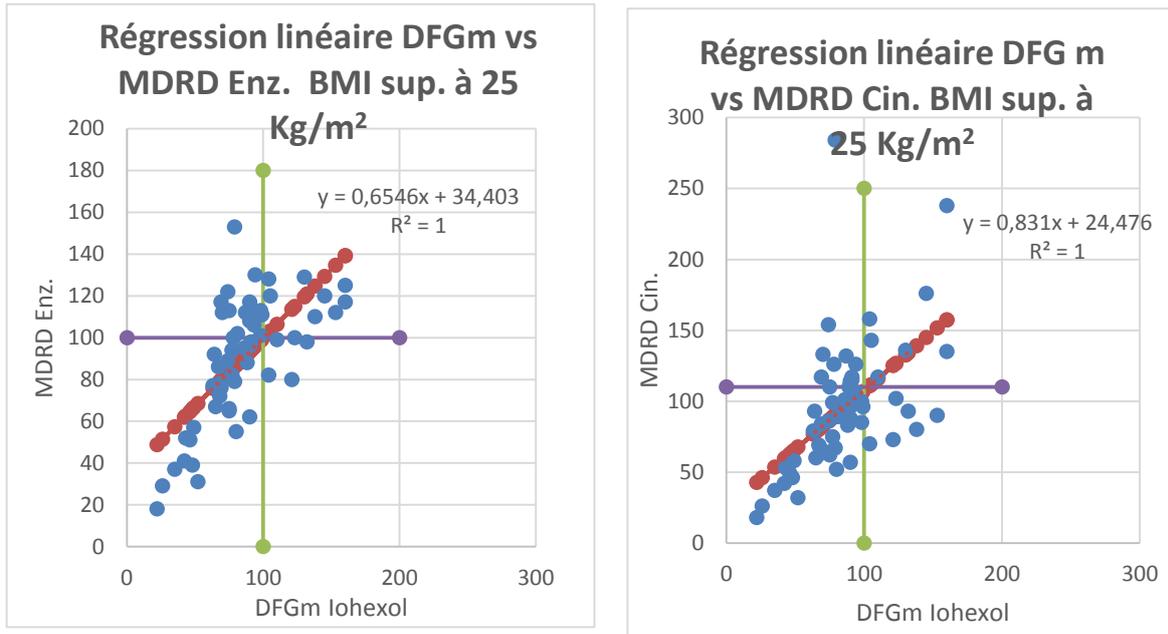


Figure 31 : Régression linéaire du DFGm vs MDRD Enz., et Cin., il n'y a pas de différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI supérieur à 25 Kg/m² avec les deux techniques de dosage de la créatinine. Le coefficient de régression r^2 est de 0,4 pour la créatinine enz. et 0,3 pour la la créatinine cin.

11.7.1.1.3 DFGm vs CKD-Epi Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 30 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² ne montre aucune différence avec une p value à 0,4.

	DFG (ml/Mn/1,73)	CKD-Epi enz
Moyenne	85,3	90,3
Variance	956,4	872,0
Observations	58	58
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	114	
Statistique t	-0,88	
P(T<=t) unilatéral	0,19	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,66	
P(T<=t) bilatéral	0,38	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,98	

11.7.1.1.4 DFGm vs CKD-Epi Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 31 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² ne montre aucune différence avec une p value à 0,2.

	DFG (ml/Mn/1,73)	CKD-Epi cin
Moyenne	85,33	93,02
Variance	956,36	903,56
Observations	58	58
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	114	
Statistique t	-1,4	
P(T<=t) unilatéral	0,1	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,2	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

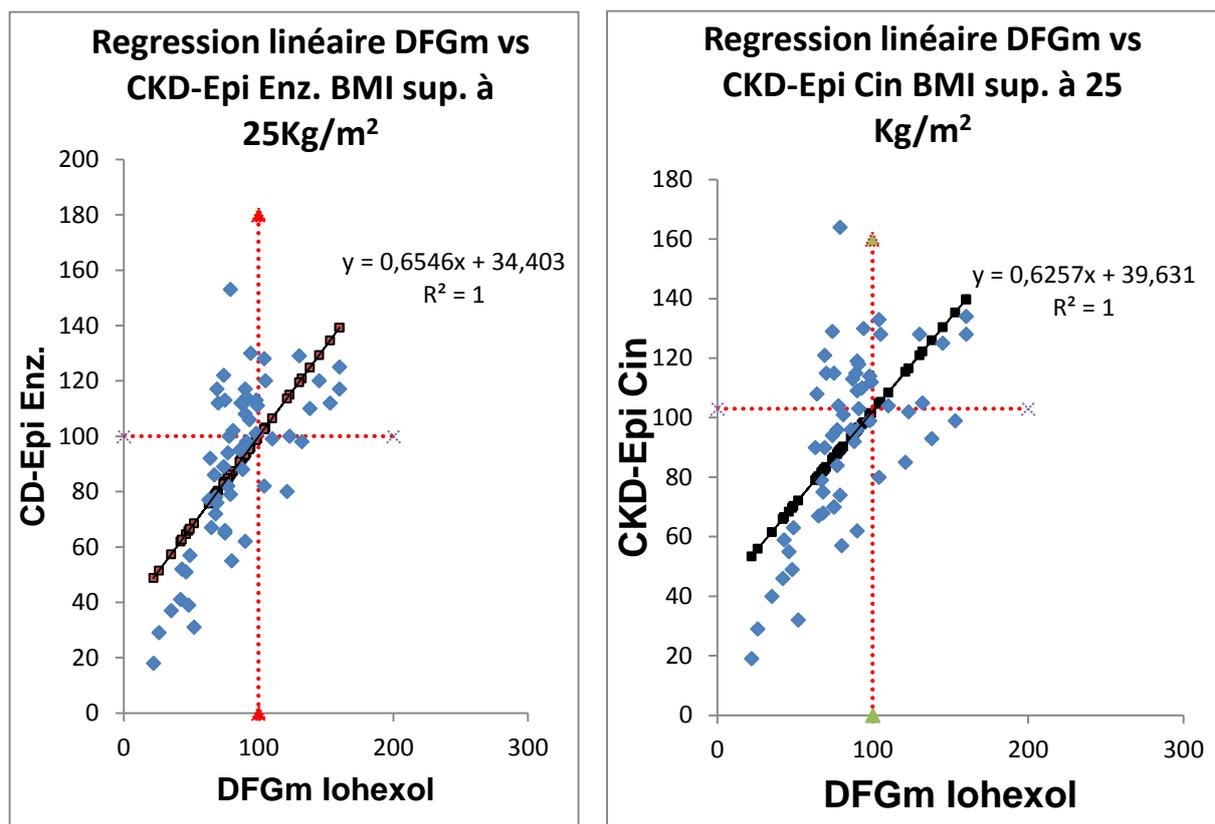


Figure 32 : Régression linéaire du DFGm vs CKD-Epi Enz., et Cin., il n'y a pas de différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI supérieur à 25 Kg/m² avec les deux techniques de dosage de la créatinine. Le coefficient de régression r² est de 0,5 pour la créatinine enz. et de 0,4 pour la créatinine cin.

11.7.1.1.5 DFGm vs Cockcroft Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 32 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² montre différence très significative avec une p value à 0,00002.

	DFG ml/Mn/1,73)	Cockcroft Enz.
Moyenne	85,3	123,4
Variance	956,4	3145,8
Observations	58	58
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	89	
Statistique t	-4,5	
P(T<=t) unilatéral	0,00001	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,00002	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.7.1.1.6 DFGm vs Cockcroft Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 33 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI > 25 Kg/m² montre différence très significative avec une p value à 0,000004.

	DFG (ml/Mn/1,73)	Cockcroft Cin
Moyenne	85,3	130,3
Variance	956,4	3900,7
Observations	58	58
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	83	
Statistique t	-4,9	
P(T<=t) unilatéral	0,000002	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,000004	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

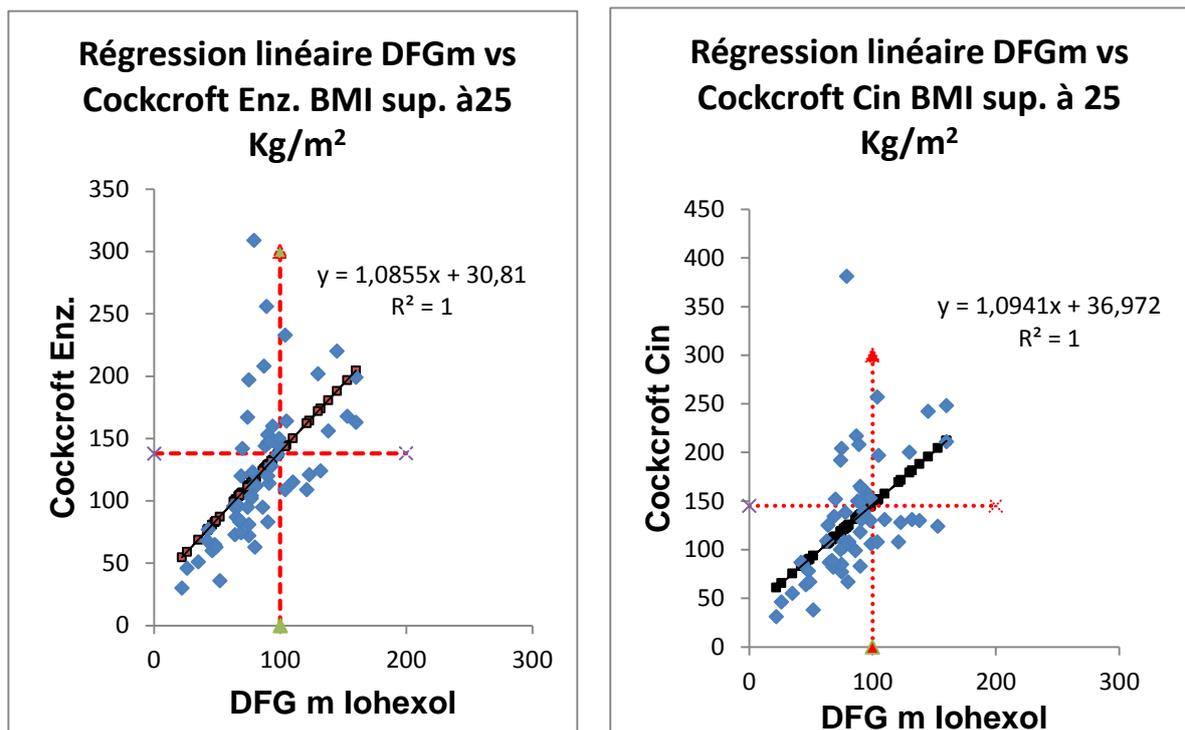


Figure 33 : Régression linéaire du DFGm vs Cockcroft Enz., et Cin., montre une différence très significative avec une surestimation de de 38 et 45 ml/mn/ 1,73 m² respectivement entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI supérieur à 25 Kg/m² avec les deux techniques de dosage de la créatinine. Le coefficient de régression r^2 est de 0,3 dans les deux cas.

11.7.1.2 BMI < à 25 Kg/m² :

- Nombre de patients : 58 (H : 23, F: 35)
- Age moyen : 45,03 ans ± 11,5

Tableau 34 : Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et à 30% (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la sous population avec BMI inférieur à 25 Kg/m².

	Moyenn e ± ET	Biais moyen ± ET	P10	P30	P value
DFGm	92,7 ± 23,0				
MDRD Enz.	114,9 ± 43,0	22,2 ± 38,6	35,7%	71%	0,004
MDRD Cin.	109,5 ± 33,3	16 ± 27,07	31%	64%	0,01
CKD-Epi Enz.	108,6 ± 26,5	15,9 ± 23,3	35,7%	76%	0,04
CKD-Epi Cin.	107,3 ± 26,0	14,6 ± 24,1	31%	64%	0,008
Cockcroft Enz.	126,2 ± 51,3	33,5 ± 46,0	17%	52%	0,0003
Cockcroft Cin.	121,3 ± 41,1	28,6 ± 33,4	21%	48%	0,0002

11.7.1.2.1 DFGm vs MDRD Enz.

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 35 : Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m² montre une différence significative avec une p value à 0,004.

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD enz
Moyenne	92,7	114,9
Variance	530,9	1848,2
Observations	42	42
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	63	
Statistique t	-3,0	
P(T<=t) unilatéral	0,002	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,004	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.7.1.2.2 DFGm vs MDRD Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 36 : Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m² montre une différence significative avec une p value à 0,01.

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD cin
Moyenne	92,7	109,5
Variance	530,9	1112,6
Observations	42	42
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	73	
Statistique t	-2,7	
P(T<=t) unilatéral	0,004	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,01	

Valeur critique de t (bilatéral) 2,0

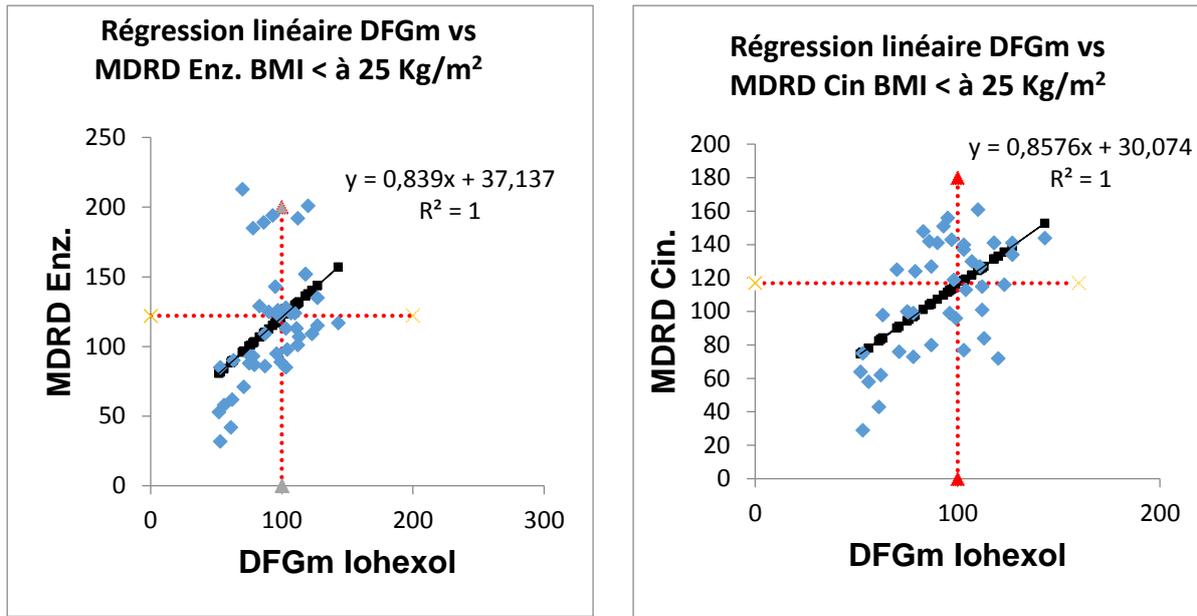


Figure 34 : Régression linéaire du DFGm vs MDRD Enz., et Cin., il y'a une différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI Inférieur à 25 Kg/m². La surestimation est de 22 ml/mn/1,73m² avec la technique enzymatique et 16 ml/mn/1,73m² avec la technique cinétique de dosage de la créatinine. Le coefficient de régression r^2 est de 0,2 pour la créatinine enz. et de 0,3 pour la créatinine cin.

11.7.1.2.3 DFGm vs CKD-Epi Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 37 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m² montre une différence significative avec une et p value à 0,004.

	DFG (ml/Mn/1,73)	CKD-Epi enz
Moyenne	92,7	108,6
Variance	530,9	702,6
Observations	42	42
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	80	
Statistique t	-2,9	
P(T<=t) unilatéral	0,002	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,004	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.7.1.2.4 DFGm vs CKD-Epi Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 38 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m² montre une différence significative avec une p value à 0,008.

	DFG (ml/Mn/1,73)	CKD-Epi cin
Moyenne	92,7	107,3
Variance	530,9	676,3
Observations	42	42
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	81	
Statistique t	-2,7	
P(T<=t) unilatéral	0,004	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,008	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

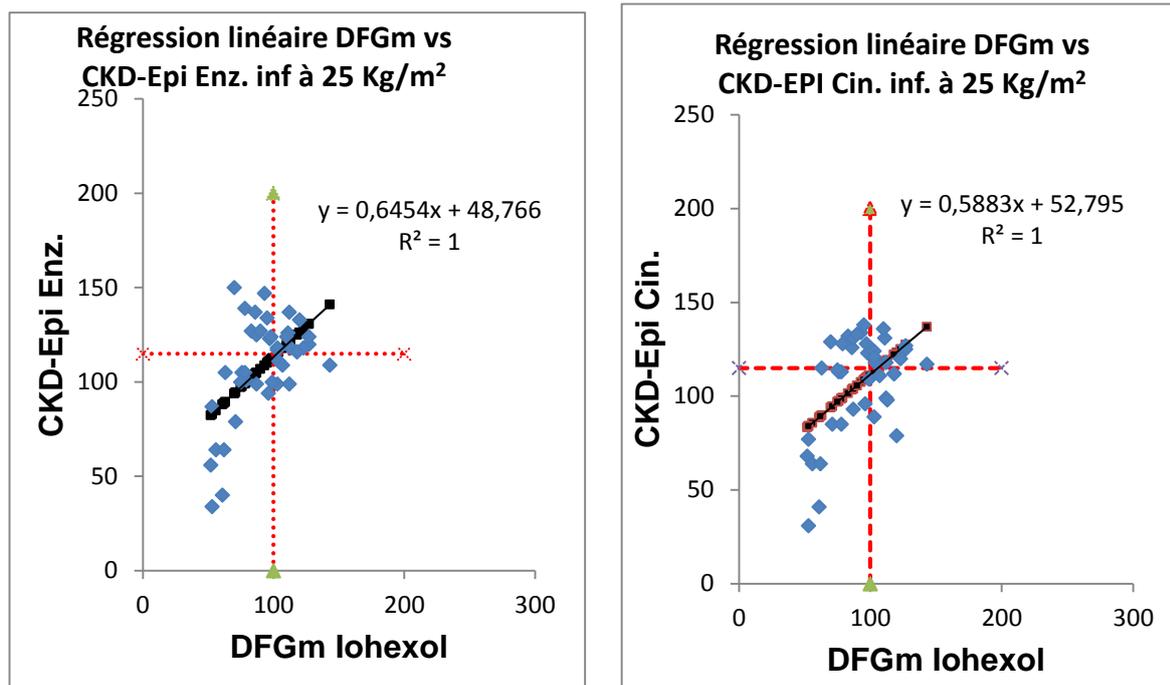


Figure 35 : Régression linéaire du DFGm vs CKD-Epi Enz., et Cin., il y'a une différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI Inférieure à 25 Kg/m². La surestimation est de 15ml/mn/1,73m² avec les deux techniques de dosage de la créatinine. Le coefficient de régression r² est de 0,3 pour la créatinine enz. et de 0,2 pour la créatinine cin.

11.7.1.2.5 DFGm vs Cockcroft Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 39 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m² montre une différence significative avec une p value à 0,0003.

	DFG (ml/Mn/1,73)	Cockcroft Enz.
Moyenne	92,7	126,2
Variance	530,9	2630,0
Observations	42	42
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	57	
Statistique t	-3,9	
P(T<=t) unilatéral	0,00014	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,0003	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,002	

11.7.1.2.6 DFGm vs Cockcroft Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 40 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe avec BMI < 25 Kg/m² montre une différence significative avec une p value à 0,0002.

	DFG (ml/Mn/1,73)	Cockcroft Cin
Moyenne	92,7	121,3
Variance	530,9	1690,4
Observations	42	42
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-3,94	
P(T<=t) unilatéral	0,0001	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,0002	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

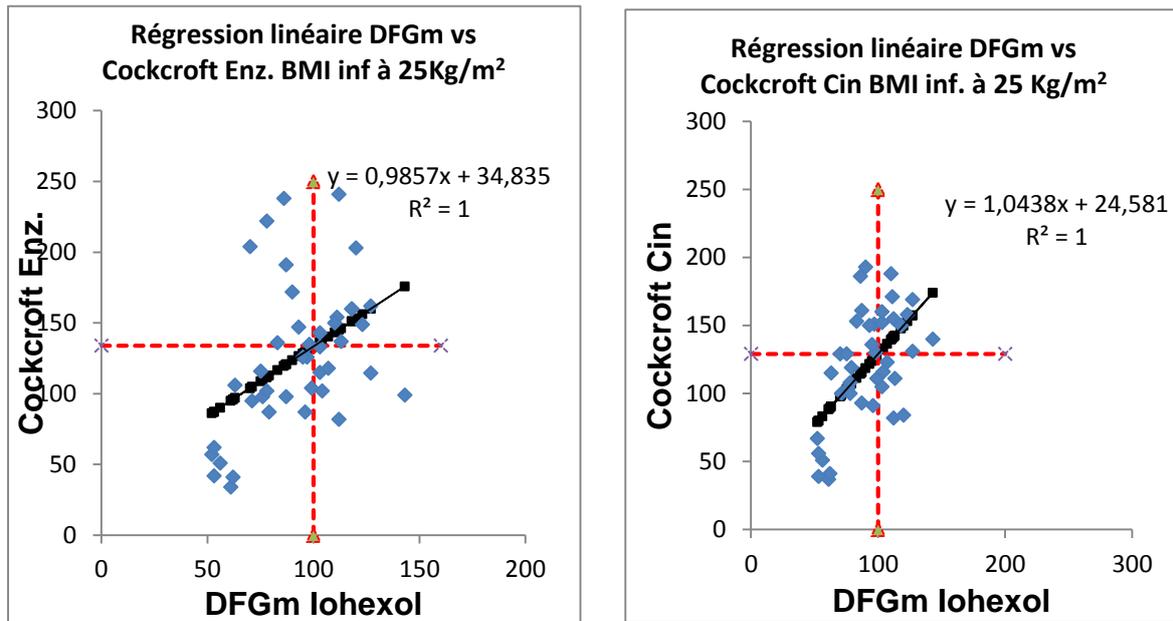


Figure 36 : Régression linéaire du DFGm vs Cockcroft Enz., et Cin., il y'a une différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe avec BMI Inférieur à 25 Kg/m². La surestimation est de 33,5 ml/mn/1,73m² avec la technique enzymatique et 28,6 ml/mn/1,73m² avec la technique cinétique de dosage de la créatinine. Le coefficient de régression r² est de 0,2 pour la créatinine enz. et de 0,3 pour la créatinine cin.

11.7.2 Niveau de fonction rénale :

11.7.2.1 DFGm supérieur à 100ml/mn/1,73m²:

- Nbre de patients : 30 (H : 14, F: 16)
- Age moyen : 39,23 ans ± 11,02

Tableau 41 : Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la sous population avec un DFGm supérieur à 100ml/mn/1,71m².

DFG	Moyenne ±ET	Biais moyen ±ET	P10	P30	P value
DFGm	121,0 ±	±			
MDRD Enz.	120,0 ± 30,0	-1,1±31,4	33%	70%	0,9
MDRD Cin.	121,7 ± 36,2	0,8±35,0	27%	57%	0,9
CKD-Epi Enz.	114,1±13,7	- 6,8±21,2	30%	80%	0,1
CKD-Epi Cin	113,1±16,8	-8,0±22,8	27%	83%	0,1
Cockcroft Enz.	147,6±42,7	27,0±41,2	20%	57%	0,003
Cockcroft Cin.	150,0±47,4	29,0±44,4	27%	50%	0,003

11.7.2.1.1 DFGm vs MDRD Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 42 : Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m² ne montre pas une différence avec une p value à 0,9.

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD enz
Moyenne	120,9	119,8
Variance	303,1	900,6
Observations	30	30
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	47	
Statistique t	0,2	
P(T<=t) unilatéral	0,4	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,9	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.7.2.1.2 DFGm vs MDRD Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 43 : Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m² ne montre pas de différence avec une p value à 0,9

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD cin
Moyenne	120,9	121,7
Variance	303,1	1309,3
Observations	30	30
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	42	
Statistique t	-0,1	
P(T<=t) unilatéral	0,5	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,9	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

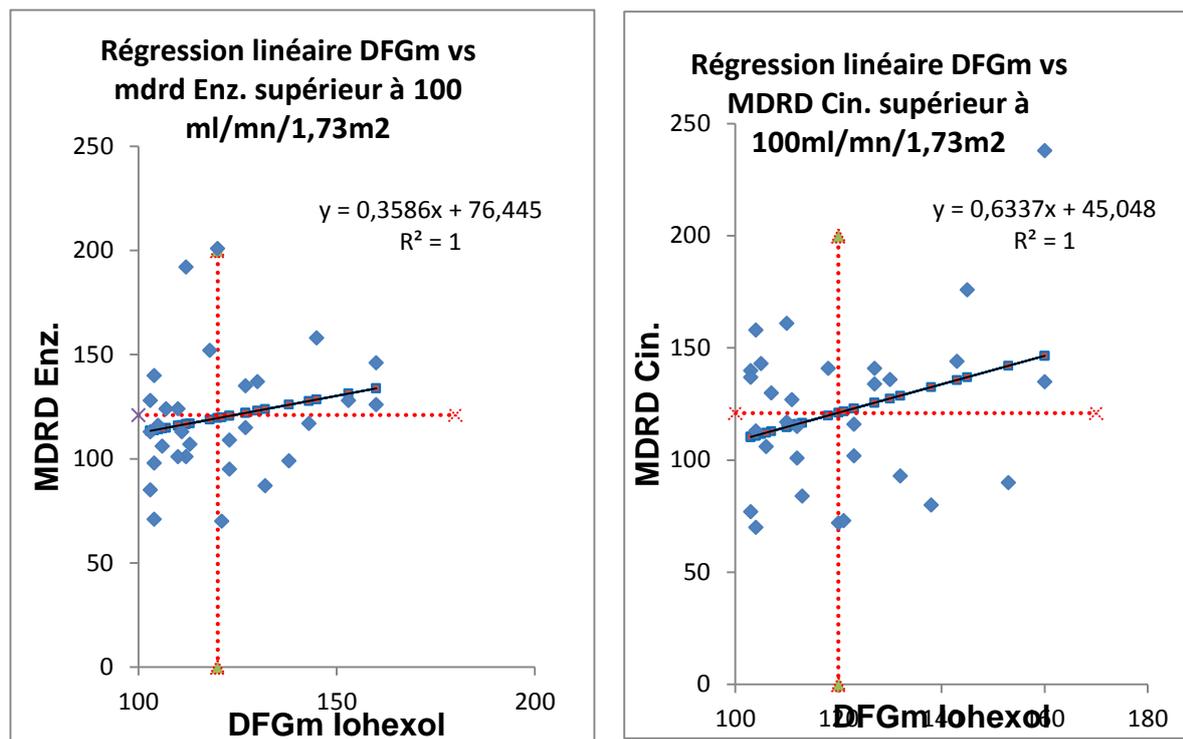


Figure 37 : Régression linéaire du DFGm vs MDRD Enz., et Cin., il n'y a pas de différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100ml/mn/1,73m², avec les deux techniques de dosage de la créatinine.

11.7.2.1.3 DFGm vs CKD-Epi Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 44 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m² ne montre pas une différence avec une p value à 0,1.

	DFG (ml/Mn/1,73)	CKD-Epi enz
Moyenne	120,9	114,1
Variance	303,1	187,6
Observations	30	30
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	55	
Statistique t	1,7	
P(T<=t) unilatéral	0,05	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,1	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.7.2.1.4 DFGm vs CKD-Epi Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 45 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m² ne montre pas de différence avec une p value à 0,1.

	DFG (ml/Mn/1,73m ²)	CKD-Epi cin
Moyenne	120,9	113,1
Variance	303,1	280,9
Observations	30	30
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	58	
Statistique t	1,8	
P(T<=t) unilatéral	0,04	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,08	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

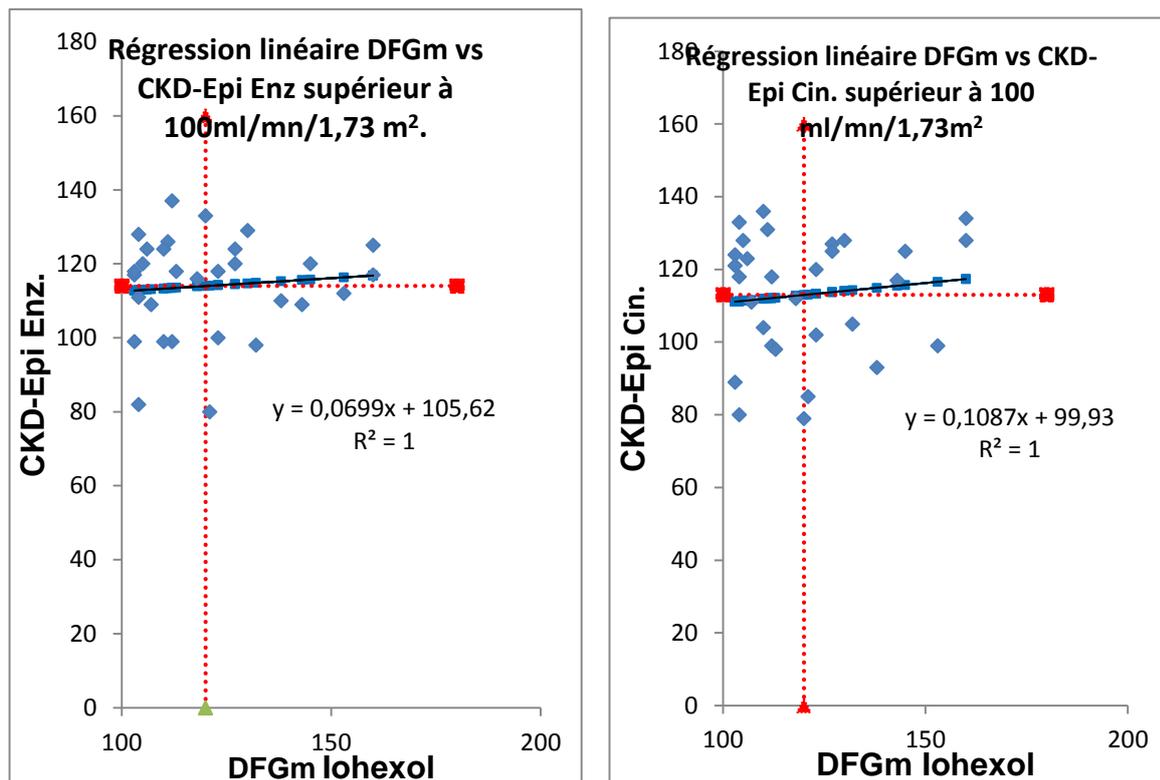


Figure 38 : Régression linéaire du DFGm vs CKD-Epi Enz., et Cin., il n'y'a pas de différence entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100ml/mn/1,73m², avec les deux techniques de dosage de la créatinine.

11.7.2.1.5 DFGm vs Cockcroft Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 46 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 1,6.10⁻⁸.

	<i>DFGm</i> (ml/Mn/1,73m ²)	<i>Cockcroft Enz.</i>
Moyenne	120,9	147,65
Variance	303,1	1821,0
Observations	30	30
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	38	
Statistique t	-3,2	
P(T<=t) unilatéral	0,001	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,003	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.7.2.1.6 DFGm vs Cockcroft Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 47 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 5,6.10⁻⁹.

	DFGm (ml/Mn/1,73m²)	Cockcroft Cin.
Moyenne	120,9	150
Variance	303,1	2247,0
Observations	30	30
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	37,0	
Statistique t	-3,1	
P(T<=t) unilatéral	0,002	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,69	
P(T<=t) bilatéral	0,0033	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

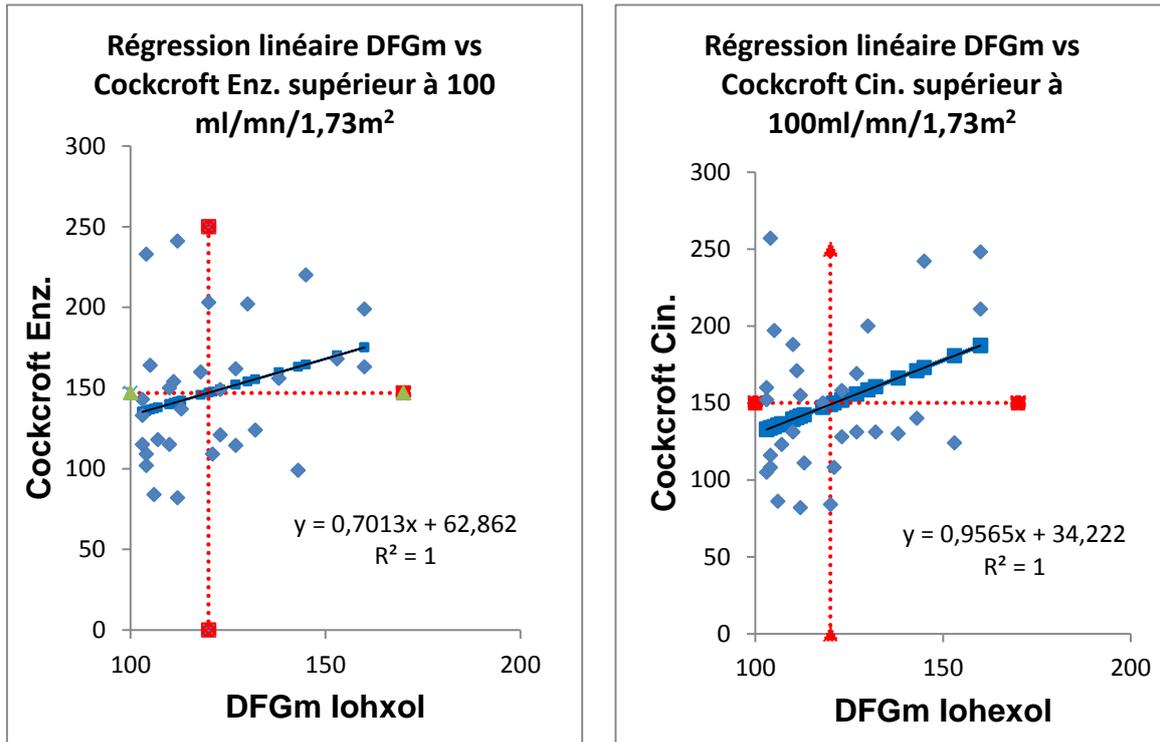


Figure 39 : Régression linéaire du DFGm vs Cockcroft Enz., et Cin., il y'a une différence significative entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm supérieur à 100ml/mn/1,73m², avec les deux techniques de dosage de la créatinine. La surestimation est de 27,0±41,2 et 29,0±44,4 respectivement.

11.7.2.2 DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m² :

- Nbre de patients : 57 (H : 22, F: 35)
- Age moyen : 41,6 ans ± 14,25

Tableau 48 : Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la sous population avec un DFGm entre 60 et 100ml/mn/1,71m².

DFG	Moyenne ±ET	Biais ±ET	P10	P30	P value
DFGm	81,14 ±				
MDRD Enz.	101,0 ±11,2	19,9±37,0	40,5%	72%	0,0004
MDRD Cin.	102,8± 37,4	21,7±35,7	30%	67%	0,0001
CKD-Epi Enz.	101,5± 24,6	20,3±22,1	30%	74%	1,1.10⁻⁷
CKD-Epi Cin	103±24,2	22,2±22,0	28%	65%	1,7.10⁻⁸
Cockcroft Enz.	127,1±52,18	46,0±49,5	16%	47%	2,3.10⁻⁹
Cockcroft Cin.	128,6±51,7	47,4±49,4	10,5%	45,6%	5,6.10⁻⁹

11.7.2.2.1 DFGm vs MDRD Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 49 : Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par le test t de Student le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 0,0004.

	DFGm (ml/mn/1,73)	MDRD Enz
Moyenne	81,1	101,0
Variance	124,7	1483,0
Observations	57	57
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	65	
Statistique t	-3,7	
P(T<=t) unilatéral	0,0002	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,0004	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.7.2.2 DFGm vs MDRD Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 50 : Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 0,0001.

	DFGm (ml/mn/1,73)	MDRD Cin
Moyenne	81,1	102,8
Variance	124,7	1401,0
Observations	57	57
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	66	
Statistique t	-4,2	
P(T<=t) unilatéral	0,00004	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,0001	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

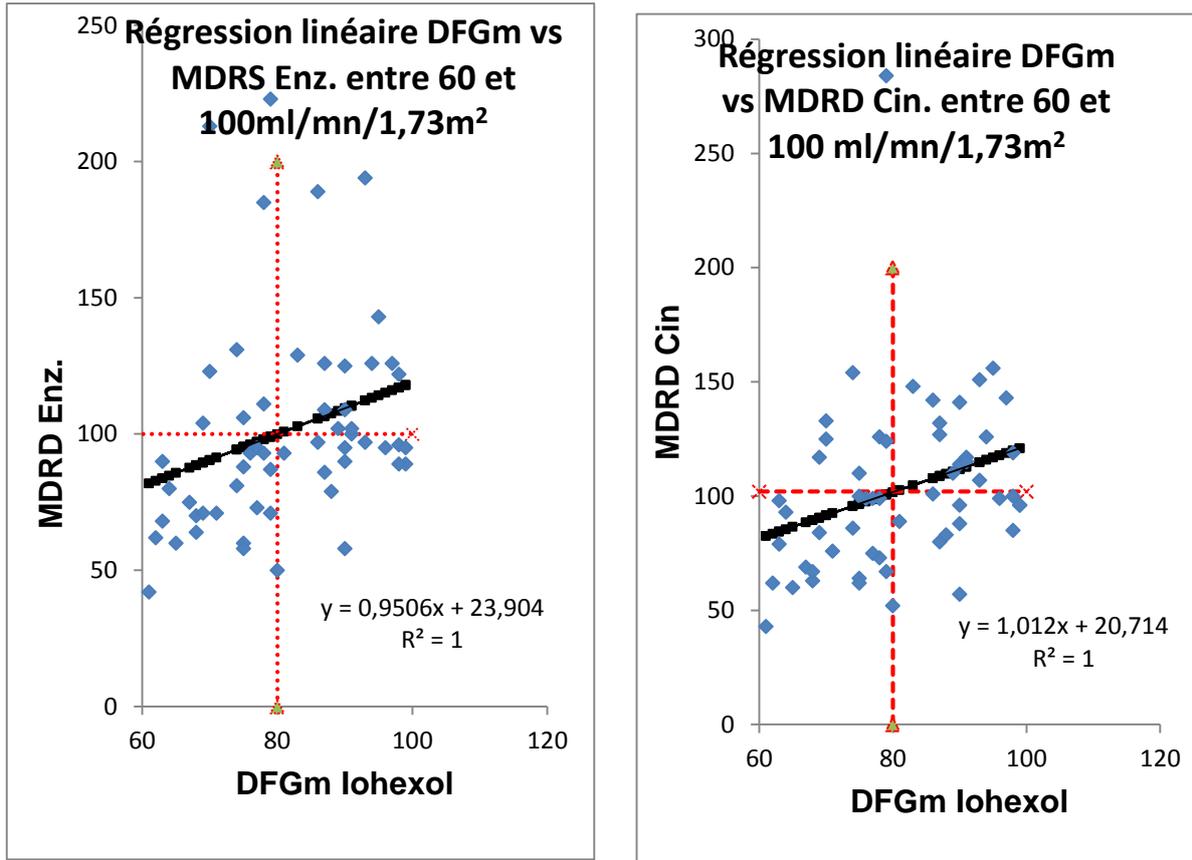


Figure 40 : Régression linéaire du DFGm vs MDRD Enz., et Cin., il y'a une différence significative entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100ml/mn/1,73m², avec les deux techniques de dosage de la créatinine.

11.7.2.2.3 DFGm vs CKD-Epi Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 51 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec un facteur F supérieur à la valeur critique de F et p value à 2,2. 10⁻⁷

	DFGm (ml/mn/1,73)	CKD-Epi Enz
Moyenne	81,1	101,5
Variance	124,7	605,6
Observations	57	57
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	78	
Statistique t	-5,7	
P(T<=t) unilatéral	1,1. 10 ⁻⁰⁷	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	2,2. 10 ⁻⁰⁷	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

11.7.2.2.4 DFGm vs CKD-Epi Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 52 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 1,7.10⁻⁸.

	DFGm (ml/mn/1,73)	CKD-Epi Cin
Moyenne	81,1	103,3
Variance	124,7	585,1
Observations	57	57
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	79	
Statistique t	-6,3	
P(T<=t) unilatéral	8,4. 10⁻⁰⁹	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	1,7. 10⁻⁰⁸	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,0	

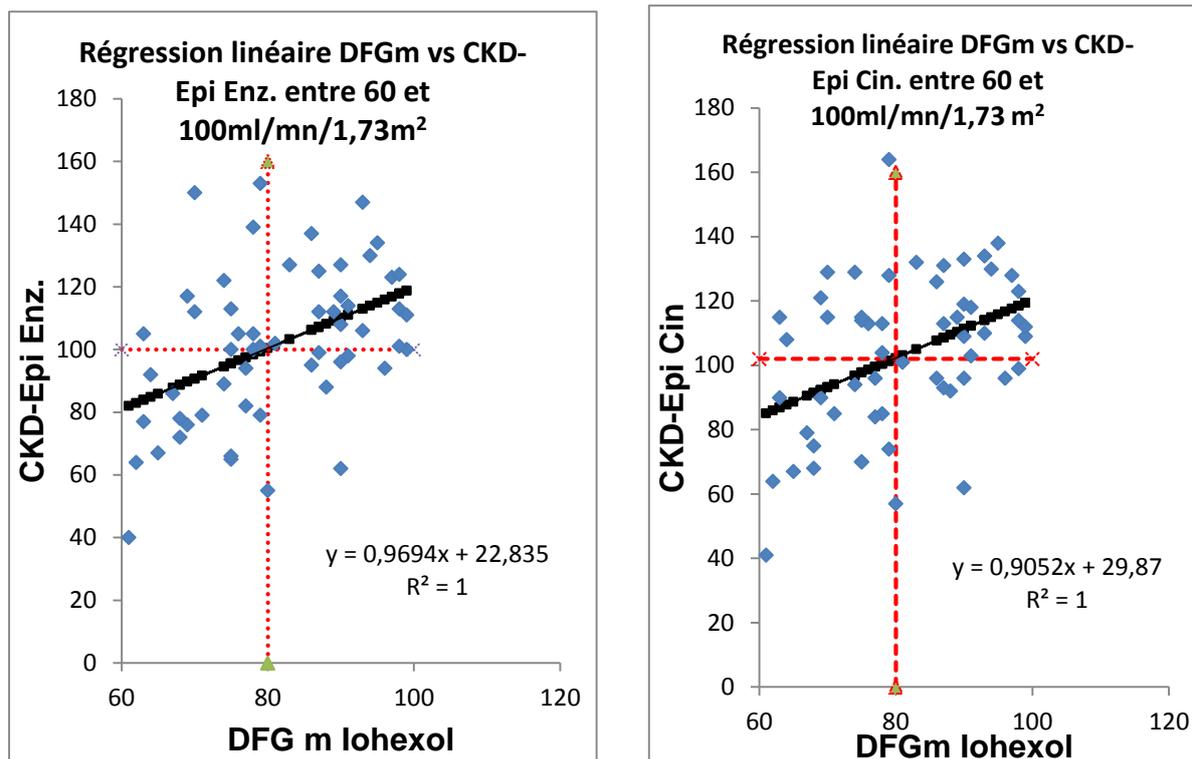


Figure 41 : Régression linéaire du DFGm vs CKD-Epi Enz., et Cin., il y'a une différence significative entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100ml/mn/1,73m², avec les deux techniques de dosage de la créatinine.

11.7.2.2.5 DFGm vs Cockcroft Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 53 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 1,6. 10⁻¹⁰.

	DFGm (ml/mn/1,73)	Cockcroft Enz.
Moyenne	81,1	127,1
Variance	124,7	2723,3
Observations	57	57
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	61	
Statistique t	-6,5	
P(T<=t) unilatéral	8,2.10⁻⁹	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	1,6.10⁻⁸	
Valeur critique de t (bilatéral)	2	

11.7.2.2.6 DFGm vs Cockcroft Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 54 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin., par test t de Student dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 5,6. 10⁻⁹

	DFGm (ml/mn/1,73)	Cockcroft Cin
Moyenne	81,1	128,6
Variance	124,7	2669,9
Observations	57	57
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	61	
Statistique t	-6,8	
P(T<=t) unilatéral	2,8.10 ⁻⁰⁹	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	5,6.10 ⁻⁰⁹	
Valeur critique de t (bilatéral)	2	

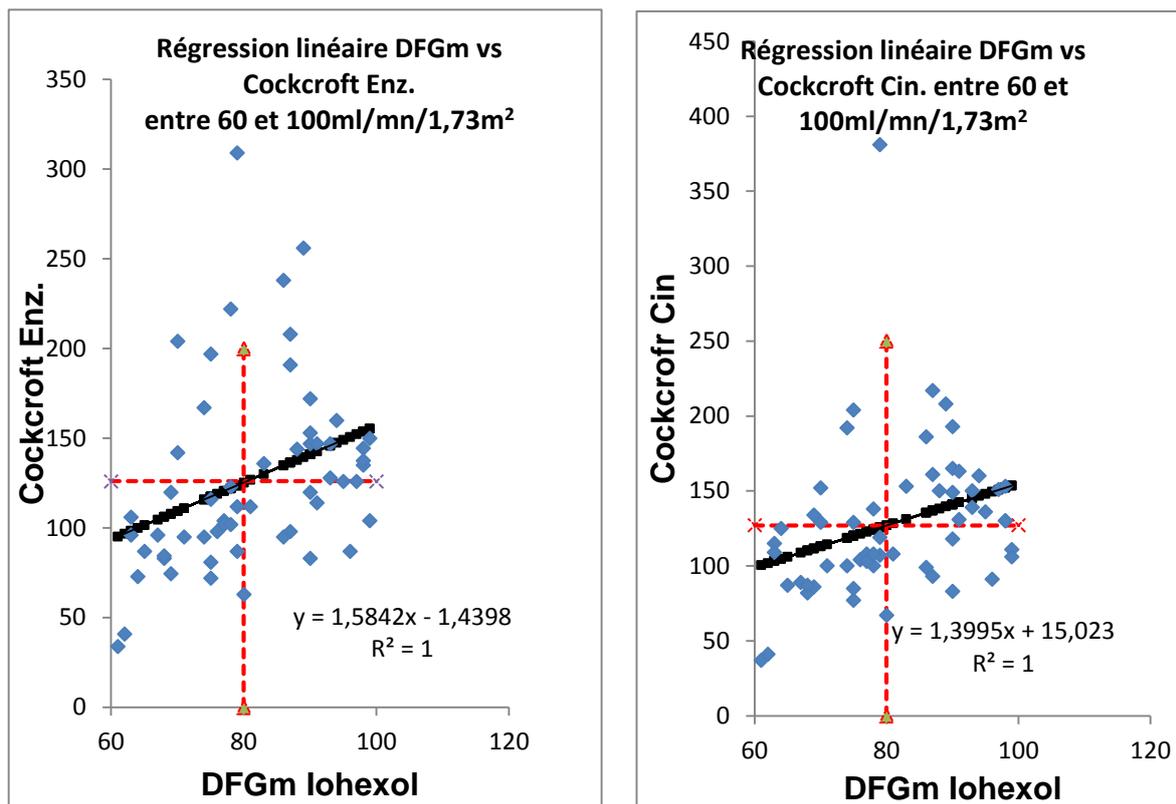


Figure 42 Régression linéaire du DFGm vs Cockcroft Enz., et Cin., il y'a une différence significative entre les deux méthodes dans le sous-groupe DFGm entre 60 et 100ml/mn/1,73m², avec les deux techniques de dosage de la créatinine.

11.7.2.3 DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m² :

- Nbre de patients 13 (H : 3, F:10)
- Age moyen : 52,46 ans ± 9,6

Tableau 55 : Résultats du biais, de l'exactitude à 10% (P10) et (P30) entre le DFGm et les trois méthodes d'estimation du DFG dans la sous population avec un DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,71m².

DFG	Moyenne ±ET	Biais ±ET	P10	P30	P value
DFGm	44,4 ± 10,7				
MDRD Enz.	42,8 ± 17,3	1,6 ± 13,2	69 %	92 %	0,8
MDRD Cin.	45,1± 16,5	0,8 ± 12,3	85 %	100 %	0,9
CKD-Epi Enz.	45,8±18	1,5 ± 13,8	77%	92 %	0,8
CKD-Epi Cin	48,6± 17,6	4,2 ± 13,3	85 %	100 %	0,5
Cockcroft Enz.	54,5 ± 13,4	10,1± 14,2	31 %	92 %	0,04
Cockcroft Cin.	59,0 ± 18,0	14,5± 18,8	23 %	85 %	0,02

11.7.2.3.1 DFGm vs MDRD Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 56 : Comparaison du DFGm vs MDRD Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m² ne montre de différence significative avec une p value à 0,8.

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD enz
Moyenne	44,4	42,8
Variance	114,3	299,7
Observations	13	13
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	20	
Statistique t	0,29	
P(T<=t) unilatéral	0,39	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,72	
P(T<=t) bilatéral	0,8	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,09	

11.7.2.3.2 DFGm vs MDRD Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 57 : Comparaison du DFGm vs MDRD Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m² ne montre de différence significative avec un facteur F inférieur à la valeur critique de F et p value à 0,9.

	DFG (ml/Mn/1,73)	MDRD cin
Moyenne	44,4	45,2
Variance	114,3	272,3
Observations	13	13
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	21	
Statistique t	-0,1	
P(T<=t) unilatéral	0,4	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,9	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,1	

11.7.2.3.3 DFGm vs CKD-Epi Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 58 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m² ne montre pas de différence significative avec une et p value à 0,8.

	DFG (ml/Mn/1,73)	CKD-Epi enz
Moyenne	44,4	45,8
Variance	114,3	323,6
Observations	13	13
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	20	
Statistique t	-0,3	
P(T<=t) unilatéral	0,4	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,8	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,1	

11.7.2.3.4 DFGm vs CKD-Epi Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 59 : Comparaison du DFGm vs CKD-Epi Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m² ne montre pas de différence significative avec une et p value à 0,5.

	DFG (ml/Mn/1,73)	CKD-Epi cin
Moyenne	44,4	48,6
Variance	114,3	308,6
Observations	13	13
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	20	
Statistique t	-0,7	
P(T<=t) unilatéral	0,2	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,5	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,1	

11.7.2.3.5 DFGm vs Cockcroft Enz. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 60 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Enz., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 0,04.

	DFG (ml/Mn/1,73)	Cockcroft Enz.
Moyenne	44,4	54,5
Variance	114,3	179,9
Observations	13	13
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	23	
Statistique t	-2,1	
P(T<=t) unilatéral	0,023	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,05	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,1	

11.7.2.3.6 DFGm vs Cockcroft Cin. :

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes

Tableau 61 : Comparaison du DFGm vs Cockcroft Cin., par le test t de Student dans le sous-groupe DFGm inférieur à 60 ml/mn/1,73m² montre une différence significative avec une p value à 0,02.

	DFG (ml/Mn/1,73)	Cockcroft Cin
Moyenne	44,4	58,8
Variance	114,3	325,8
Observations	13	13
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	19	
Statistique t	-2,5	
P(T<=t) unilatéral	0,01	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,7	
P(T<=t) bilatéral	0,02	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,1	

11.7.3 Facteur ethnique :

11.7.3.1 Facteur ethnique appliqués la formule MDRD :

- Facteur noirs américains : 1,212 (Stevens et Livey)
- Facteur chinois : 1,23 (Ma et all.)
- Facteur japonais : 0,81 (Matsuo et all.)
- Facteur thaïlandais : 1,129 (Praditpornsilpa et all.)

Tableau 62 : Présente les résultats du biais moyen et l'exactitude à 10% (P10) et l'exactitude à 30% (P30) entre le DFGm et la méthode MDRD avec la créatinine mesurée par la technique enzymatique et cinétique de la population étudiée avec les facteurs de correction liés aux différentes ethnies, chinoise, japonaise, thaïlandaise et noire américaine.

Origine ethnique	DFG ml/mn/1,73m²	Moyenne ± ET	Biais ± ET	P10	P30
	DFGm	88,29 ± 27,70			
Chinoise	MDRD Enz.	127,0 ± 52,4	39,0± 42,7	16%	49%
	MDRD Cin.	130,4 ± 54,8	42,1 ± 45,8	11%	41%
Japonaise	MDRD Enz.	80,3 ± 33,3	- 8,0 ± 29,0	35%	78%
	MDRD Cin.	81,8 ± 33,9	- 6,5 ± 29,2	34%	79%
Thaïlandaise	MDRD Enz.	112,0 ± 46,3	23,6 ± 38,7	34%	70%
	MDRD Cin.	114,0 ± 47,2	25,7 ± 39,0	27%	56%
Afro-américaine	MDRD Enz.	120 ± 49,8	32,0 ± 41,5	22%	57%
	MDRD Cin.	122 ± 50,7	-34,0 ± 41,8	18%	47%

11.7.3.2 Facteurs ethniques appliqués à la formule CKD-Epi :

- Facteur noirs américains : 1,159 (Stevens et levey et all.)
- Facteur noirs européens : 1,080 (Flamant M. et all.)

Tableau 63 : Présente les résultats du biais moyen et l'exactitude à 10% (P10) et l'exactitude à 30% (P30) entre le DFGm et la méthode CKD-Epi avec la créatinine mesurée par la technique enzymatique et cinétique de la population étudiée avec les facteurs de correction liés aux ethnies, afro-américaine facteur 1,21 et afro-européenne facteur 1,08.

Origine ethnique	DFG ml/mn/1,73m ²	Moyenne ± ET	Biais ± ET	P10	P30
	DFGm	88,29 ± 27,70			
Afro-Américains	CKD-Epi Enz.	114 ± 34,36	25 ± 26,8	13%	57%
	CKD-Epi Cin.	115 ± 34,0	27 ± 27,7	14%	55%
Afro-Européens	CKD-Epi Enz.	106 ± 32	18 ± 25,5	25%	69%
	CKD-Epi Cin.	107 ± 31,6	19 ± 26,4	23%	66%

PARTIE IV : DISCUSSION

12 Discussion

12.1 Introduction :

La méthode utilisée pour mesurer le débit de filtration glomérulaire dans notre étude est la clairance plasmatique de l'iohexol, il s'agit d'une méthode de référence validée à partir de laquelle est déterminé le débit de filtration glomérulaire de la population étudiée dénommé DFGm.

La valeur ainsi mesurée du débit de filtration glomérulaire est considérée comme réelle et vraie, elle a permis secondairement d'évaluer les estimations du DFG (DFGe) établies à partir des équations recommandées par les guidelines internationaux KDIGO et KDOQI : la formule MDRD, CKD-EPI et Cockcroft-Gault.

Le modèle utilisé est le modèle uni-compartimental corrigé par la formule de Brochner-mortensen, après injection unique de l'iohexol suivie de prélèvements sanguins multiples. Le dosage de l'iohexol a été réalisé par chromatographie en phase liquide à haute performance selon la méthode décrite par Krutzen(1).

12.2 Le choix de la méthode

Comme cela est suggéré par les guidelines KDOQI 2002, les études cliniques nécessitent une mesure précise du DFG, pour cela, ils recommandent l'utilisation des méthodes de référence qui font appel à des traceurs exogènes, exclusivement éliminés par les reins et possédant d'autres caractéristiques telles que, une filtration libre au niveau du glomérule, sans sécrétion ni réabsorption tubulaire. Parmi elles, la gold standard reste la clairance urinaire de l'inuline, mais celle-ci est de réalisation difficile, puisqu'elle nécessite, une perfusion continue de l'inuline pour arriver à l'équilibre et une collecte des urines qui se fait par sondage vésical, ceci rend son utilisation en routine compliqué. Cette méthode est relativement couteuse (66,83), de plus cette substance n'est plus utilisée que radiomarkée en expérimentation animale et ne dispose plus d'AMM chez l'homme en raison des risques des réaction anaphylactique de certaines de ses préparations(84). L'inuline n'est pas disponible en Algérie. De même les traceurs radio marqués développés pour l'étude du DFG (l'acide éthylène diamine tétra-acétique ^{51}Cr (EDTA) ou ^{99}Tc -diéthylène triamine penta acétique (DTPA) sont couteux et présentent en plus, la contrainte d'une manipulation délicate, rigoureusement réglementée (83,85) et donc peu accessible surtout dans

des pays en voie de développement. En Algérie ces deux produits sont disponibles et leur utilisation est très limitée.

L'iothalamate, est un produit de contraste utilisé aux Etats Unis (65,86,87).

Par contre l'iohexol, marqueur iodé non-ionique de faible osmolalité, qui a les caractéristiques d'un bon traceur exogène puisqu'il est librement filtré, sa liaison aux protéines est inférieure à 2%, son excrétion est presque exclusivement urinaire avec une clairance extra-rénale comprise entre 0 et 6 ml/min/1,73m² (1,88–90). De plus il n'est ni sécrété, ni réabsorbé par le rein.

L'iohexol est largement utilisé en radiologie clinique et considéré exempt d'effets secondaires aux doses utilisées pour la détermination du DFG même chez les diabétiques et les patients ayant une atteinte rénale modérée (53,83,91,92) Il a même été utilisé par certains auteurs, avec satisfaction chez des enfants et des femmes enceintes (71).

Aucun évènement indésirable grave n'a été rapporté notamment d'ordre allergique dans tous les pays où il a été utilisé (93,94).

Au plan analytique, l'iohexol présente de véritables atouts ; d'abord son dosage par HPLC-UV dans le sérum après déprotéinisation est sensible, précis, spécifique, et reproductible permettant l'usage de faibles doses d'iohexol (70,95,96). Ensuite, la mesure du DFG par clairance plasmatique ou urinaire de l'iohexol a fait l'objet d'un protocole rigoureux, approfondi et validé ayant fait l'objet de publication (83). La méthode a également été validée au cours de plusieurs études aussi bien par rapport à la clairance de l'inuline (64,67,69) que par rapport à celle de 51Cr-EDTA (65,68,92,97,98).

C'est pourquoi, l'iohexol est actuellement admis comme un marqueur de référence de mesure du DFG et largement utilisé pour les études d'évaluations de formule d'estimation du DFG(99).

L'iohexol est un marqueur remarquablement stable aussi bien à température ambiante qu'à -20 ou -80°C et possédant un coût faible. Avec tous ces avantages, l'iohexol s'est avéré être le meilleur marqueur de référence pour la conduite de notre étude.

Durant la conduite de notre étude, nous avons remarqué que les décongélations successives n'altèrent en rien la concentration des échantillons.

En plus de toutes les caractéristiques décrites qui font de ce produit un marqueur idéal, le choix porté sur l'iohexol dans notre étude est lié d'une part à sa disponibilité dans notre pays où il est utilisé en radiologie et la disponibilité du matériel de dosage représenté par l'appareillage HPLC d'autre part.

Ces deux éléments importants nous ont facilité la tâche pour arriver à doser l'iohexol après sa dilution dans l'eau ultra pure, ceci nous a permis d'obtenir des résultats encourageants.

De nouvelles préparations ont été obtenues après dilution dans du sérum humain et les résultats étaient similaires aux précédents, cela a été le départ de cette thèse.

A ces étapes, il s'en est suivi une étape de validation pour comparer nos résultats à ceux publiés dans la littérature (70)

12.3 Validation du dosage de l'iohexol (78,100–102) (103)

Le dosage de l'iohexol par HPLC est déjà validé par E. Cavalier(70). La FDA/ICH recommande de revalider la technique de dosage par HPLC en cas de changement important.

Le protocole de validation du dosage de l'iohexol suivi dans notre étude est celui général décrit par la SFSTP (79) et spécifique appliqué par E. Cavalier pour la validation du dosage de l'iohexol par HPLC(70) qui constitue la seule référence complète disponible dans la littérature. Il comporte la détermination de la linéarité, de la fidélité, de la justesse et l'exactitude qui est la combinaison de la fidélité et de la justesse. Les limites de détection (LDD) et de quantification (LDQ) ont également été déterminées.

Comparée au travail d'E. Cavalier notre travail retrouve les résultats suivants :

12.3.1 La linéarité :

Tableau 64 : Comparatif de la linéarité entre le travail personnel et celui d'E. Cavalier :

Linéarité travail personnel	E. Cavalier
La gamme utilisée : Niveau1 : 16,4 µM/ml (13,5 µg/ml) Niveau2 : 32,8 µM/ml (26,9 µg/ml) Niveau3 : 65,65 µM/ml (53,9 µg/ml) Niveau4 : 131,3 µM/ml (107,8 µg/ml) Niveau5 : 262,6 µM/ml (215,6 µg/ml) Niveau6 : 525,25 µm/m (431,3 µg/ml)	8,63 µg/ml 12,95 µg/ml 64,75 µg/ml 259 µg/ml 518 µg/ml 1295 µg/ml
Coefficient de corrélation R ² = 0,9982	-----
Coefficient de régression r ² = 0,9957	0,9989
Pente de la droite de régression = 1	Pente= 1,035
Intercepte sur l'axe des ordonnées proche de zéro = 0,0103	Intercepte=0,5372
LDD : 12,09 µM/ml (9,9 µg/ml)	3,08µg/ml
LDQ : 40,03 µM / ml (33,1µg/ml)	

12.3.2 La justesse :

Travail personnel :

E. Cacalier

Biais relatif :

Niveau 1 (16,4 µM/l)	24,2%	-3,4%
Niveau 2 (32,8 µM/l)	-7,2%	-1,3%
Niveau 3 (65,65 µM/l)	1,8%	0,7%
Niveau 4 (131,3 µM/l)	1,4%	2%
Niveau 5 (262,6 µM/l)	-3,1%	6,2%
Niveau 6 (525,25 µM/l)	0,7%	3,3%

12.3.3 La fidélité (précision) :

Travail personnel :

E. Cavalier

Ecart-type / Coefficient de variation :

Niveau 1 (16,4 µM/l)	0,8/ 6,2%	15,0/17%
Niveau 2 (32,8 µM/l)	0,5/1,4%	4,2/4,2%
Niveau 3 (65,65 µM/l)	0,4/0,6%	4,4/4,4%
Niveau 4 (131,3 µM/l)	0,6/0,5%	3,1/3,3%
Niveau 5 (262,6 µM/l)	1,6/0,6%	2,1/2,1%
Niveau 6 (525,25 µM/l)	3,1/0,6%	2,4/2,7%

Le domaine d'exactitude retenu par E. Cavalier :

Entre 12,95 et 1295 µg/ml correspond au Domaine de validité pour la méthode utilisée par E. Cavalier.

Notre étude le domaine d'exactitude retrouvé est le suivant :

26,9 et 431,3 µg/ml qui correspond domaine de validité de notre méthode.

La différence pour la **limite inférieure 12,95 LDD= 3,08 µg/ml** (E. Cavalier) et **26,9 µg/ml** et **LDD = 9,9 µg/ml** (notre travail) s'explique peut-être par le type de colonne utilisée :

E. Cavalier : C18 : 250/4 mm, 5 µm de diamètre de pore

Notre étude : C18 : 100/3 mm, 3 µm diamètre de pore

12.4 Le dosage de la créatinine :

Dans notre travail le DFG estimé (DFGe) est déterminé par deux techniques de mesure de la créatinine, enzymatique et Jaffé cinétique qui sont toutes les deux traçables en IDMS et les résultats sont donnés en double pour chaque formule d'estimation.

Le choix d'utiliser les deux techniques de dosage de la créatinine est motivé par le fait que seul la méthode de Jaffé cinétique est répandue dans nos laboratoires, très peu utilisent la technique enzymatique. L'objectif était de démontrer que les deux techniques se valent en termes de résultats si ces deux techniques sont traçables en IDMS.

La méthode de dosage de la créatinine par dilution isotopique par spectrométrie de masse est considérée comme une méthode référence, fiable et solide du dosage de la créatinine et ses résultats sont exactes et précis. Son utilisation en routine n'est cependant pas possible du fait de son coût très élevé, elle est proposée aux laboratoires d'analyse pour valider leurs résultats de dosage de la créatinine(49,104)

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui permet la détermination des masses moléculaires des composés analysés ainsi que leur identification et leur quantification. Elle est fondée sur la séparation et la détection d'ions formés dans une source d'ionisation ou dans une chambre de collision(105)

La dilution isotopique consiste à diluer de la créatinine deutérée ou marquée isotopiquement (deutérée= isotopiquement substitués en isotope D de l'hydrogène à la place de l'isotope ultra-majoritaire ^1H) dans de l'eau ultra-pure à une concentration connue. Cette molécule de créatinine marquée est fournie dans le commerce.

Une fois obtenue(106), la créatinine marquée est mélangée avec le sérum du patient avec une créatinine de concentration inconnue, la spectrométrie de masse va identifier les deux créatinines et va les signaler sous formes de pic ; figure ci-après

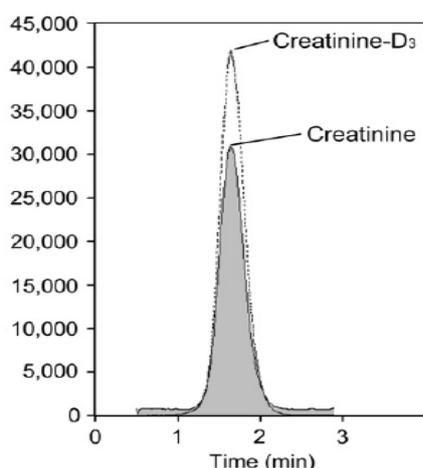


Figure 43 : Représente un spectre spectrométrique de masse de la créatinine marquée et la créatinine de l'échantillon d'un patient.

La créatinine- D_3 est la créatinine exogène de concentration connue qui sera utilisée pour déterminer la concentration de de l'échantillon inconnu du patient.

La calibration IDMS des autres méthodes usuelles de dosage de la créatinine consiste à tracer une courbe de corrélation entre les concentrations la créatinine des différents échantillons obtenues par spectrométrie de masse et celle obtenues par méthode soit enzymatique ou cinétique et de réaliser ensuite un ajustement de cette dernière par rapport à la première méthode(IDMS)(106).

Ainsi, tous les dosages de la créatinine que nous avons utilisés dans notre étude ont été réalisés par le même laboratoire, sur le même appareil de marque Cobas intégra 400 de roche avec des kits traçable en IDMS fournis par l'industrie. Le coefficient de variabilité (CV) des résultats sur cet appareil est de de 2,5 à 3 % et le biais est nul (49,104).

La calibration IDMS et la réalisation des dosages de la créatinine dans le même laboratoire et sur le même appareil permet de réduire les erreurs signalées par certains comme une source de sur- ou sous-estimation des résultats des formules d'estimation(107).

L'étude comparative n'a montré aucune différence entre les deux techniques de dosage de la créatinine (enzymatique et cinétique) avec des moyennes de concentration équivalentes avec les deux techniques :

Créatinine enzymatique : moyenne \pm écart-type = 8,71 \pm 4,03 mg/l.

Créatinine cinétique : moyenne \pm écart-type = 8,49 \pm 3,9 mg/l.

La p value = 0,7.

La corrélation entre la créatinine cinétique par rapport à la créatinine enzymatique est parfaite avec un $R^2= 0,911$.

Le test de Fisher montre un facteur F supérieur au facteur critique de F.

Le modèle de régression est linéaire et prédictif dans l'intervalle de confiance de 95%.

La comparaison pour la même formule des résultats calculée par la créatinine enzymatique et la créatinine cinétique ne montre aucune différence.

Il n'y a pas non plus de différence entre le DFG estimé par la formule MDRD et la formule CKD-Epi calculées avec les deux techniques de dosage de la créatinine ; enzymatique et cinétique.

Par contre la différence est très significative si on compare les formules CKD-Epi et MDRD avec la formule de Cockcroft qui sur-estime le DFG de façon très importante avec les deux techniques de dosage de la créatinine.

La sur-estimation du DFG par les formules d'estimation constatée dans notre ne peut être imputée au dosage de la créatinine puisqu'il est conforme aux recommandations émises, l'appareillage utilisé pour son dosage est celui qui donne le moins d'erreur avec un coefficient de variation inférieur à 3% et biais absolu nul.

12.5 Etude des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG)

Les critères utilisés dans la littérature et recommandés par les NKF/KDOQI 2002 sont les biais absolu moyen (et relatif), la précision et l'exactitude à 10% dite P10 et l'exactitude à 30% dite P30.

Le biais absolu moyen est déterminé par la moyenne des différences entre les formules d'estimation (CG, MDRD et CKD-Epi) et le DFGm (mesuré).

On parle de sous-estimation si le biais absolu moyen est négatif et de sur-estimation s'il est positif.

La précision est appréciée par l'écart-type et la concordance de deux méthodes de mesure par la courbe de Bland-Altman qui étudie la dispersion des valeurs autour du biais. Cette courbe représente la relation entre la moyenne des DFG déterminés par les deux méthodes en abscisse et la différence entre ces même DFG en ordonnées.

L'exactitude à 10% (P10) et à 30% (P30) représente les valeurs du DFG estimé par les formules situées à $\pm 10\%$ et $\pm 30\%$ du DFGm (mesuré).

Pour que la méthode soit considérée comme fiable il faut que le pourcentage de valeurs du DFG estimé situés dans la fourchette de $\pm 10\%$ du DFGm soit de 50% on parle alors de P10 à 50% et 80% des valeurs du DFG estimé soient dans la fourchette de $\pm 30\%$ du DFGm on parle alors de P30 à 80%.

a) MDRD vs DFGm :

Le DFGm moyen obtenu est de $88,29 \pm 27,7$ ml/mn/1,73m².

Technique enzymatique :

MDRD enz. est de $99,09 \pm 41,81$ ml/mn/1,73 m². Le biais absolu est de $10,8 \pm 34,58$ ml/mn/1,73m². Dans l'ensemble de la population d'étude le MDRD enz. Sur-estime de $10,8$ ml/mn/1,73m² le DFGm. La P10 est retrouvé à 47% et la P30 à 76%. La différence est significative avec P value à 0,03.

Technique Jaffé cinétique :

MDRD cin. est de $100,98 \pm 29,65$ ml/mn/1,73m², le biais absolu $12,69 \pm 35,27$ ml/mn/1,73m², la P10 à 38% et la P30 à 69%. La différence est significative avec une p value à 0,001.

Dans les deux situations, on remarque une sur-estimation du DFG par MDRD aussi bien avec la technique enzymatique que la technique cinétique, plus accentuée avec la deuxième technique.

Dans la population avec un DFG supérieur à 60ml/mn/1,73 m², toutes les études(108) ont montré une sous-estimation du DFG de 9 à 42 ml/mn/1,73m² avec une P30 faible entre 28 et 86% seul Rigalleau qui a trouvé une P30 à 89% avec la correction du dosage de la créatinine, la P30 est retombée à 51%(109).

Toutes les autres publications insistent sur la faible performance du MDRD, qui a tendance à sous-estimer le DFG dans cette population avec un DFG supérieur à 60 ml/mn/1,73 m². Cela est expliqué en partie, par la population de dérivation de la formule MDRD ne comportant que des sujets avec un DFG inférieur à 60 ml/mn/1,73m².

Bostom et al. (110) dans une population de 109 patient avec MRC et une créatinine inférieure à 15mg/l et une DFGm moyen de 109 ml/mn/1,73m² retrouve une sous-estimation de $-41,7$ ml/mn/1,73m², par le MDRD avec une exactitude à 30% était à 28%.

Lin et al.(111) chez 100 donneurs vivants, le DFGm moyen a été retrouvé à 113 ml/mn/1,73m² la créatinine a été mesurée par la technique de Jaffé. Le biais était de $-18,3$ ml/mn/1,73m² donc une sous-estimation de 18 mm/mn/1,73m². La P30 était de 65%.

Rule et al. (112) chez 365 donneurs vivant toujours avec une créatinine dosée par la technique de Jaffé retrouve également une sous-estimation avec un biais absolu de $-29\text{ml/mn}/1,73\text{m}^2$ avec une P30 à 50%.

Poggio et al. (113) Dans une population de 457 donneurs vivants le biais absolu était de $-9\text{ml/mn}/1,73\text{m}^2$. La P30 à 86%.

Ibrahim et al. (114) Chez 1286 patients avec une créatinine inférieure à 12mg/l , le biais absolu retrouvé était de $-22\text{ ml/mn}/1,73\text{m}^2$ et une P 30 à 78%.

Verhaveet et al. (115) Chez une population de 850 patients dont le DFG moyen de $99,3\text{ ml/mn}/1,73\text{m}^2$, retrouve une sous-estimation du DFG par la formule MDRD avec un biais absolu à $-12\text{ml/mn}/1,73\text{m}^2$.

Bukabau et al. (116) Chez une population de 494 de l'Afrique subsaharienne : république démocratique du Congo (210 patients) et de la Cote d'Ivoire (284 patient), avec un DFG médian de $88\text{ ml/mn}/1,73\text{ m}^2$ il retrouve un biais à $-7,8\text{ ml/mn}/1,73\text{m}^2$ et une P(30) à 76%.

Rigalleau (109), froissard (117) et Cirillo (118) ont retrouvé chez des populations proches pratiquement les mêmes résultats de sous-estimation par le MDRD avec un biais absolu entre -1 et $-6\text{ ml/mn}/1,73\text{m}^2$

Dans la littérature, on retrouve des publications(108,119 et 120) qui démontrent une sur-estimation du DFG par la formule MDRD comme cela est le cas des résultats de notre étude. L'explication avancée pour justifier la sous-estimation du DFG par la formule MDRD n'est pas suffisante, il y'a bien d'autres facteurs qui interviennent dans les résultats de cette formule tel que le facteur ethnique et peut être le régime alimentaire moins riche en protéines.

Grubb et al.(120) Chez 451 sujets tout venants, le DFG moyen était de $63\text{ ml/mn}/1,73\text{m}^2$ avec une créatinine mesurée par la technique enzymatique retrouve une retrouve une sur-estimation du DFG par la formule MDRD avec un biais de $11,8\text{ ml/mn}/1,73\text{m}^2$. La P30 à 71%.

Snjay-Srinivas(119) et al. en Inde ont démontré chez une population de 599 donneurs vivants avec un DFG moyen de $95\text{ ml/mn}/1,73\text{m}^2$ et un DFG estimé par la formule MDRD à 6 variables une sur-estimation de 13,1

ml/mn/1,73m² et une P30 à 74%, la sur-estimation était moindre avec la formule MDRD à 4 variables avec un biais 7,5 et une P30 à 80%.

Froissard et al.(107) chez une population de contrôle externe de 162 donneurs vivants /882 patients avec MRC dont le DFG moyen était de 98 ml/mn/1,73m². Dans le groupe avec le DFG moyen était de 87ml/mn/1,73m². La comparaison avec la formule MDRD à quatre facteurs montre une sur-estimation avec un biais absolu dans le groupe de donneurs vivants à 13,3 ml/mn/1,73m² et 10,8 dans le groupe dans le groupe avec MRC la P30 était de 52% et 47% respectivement.

Ce travail de Froissard a été réalisé en réponse à celui de Rule qui a démontré une sous-estimation du DFG par la formule MDRD.

L'explication apportée par Froissard était liée à l'utilisation de différents traceurs exogènes pour la mesure du DFG et que la créatinine a été dosée dans des laboratoires différents ce qui peut être une source d'erreur car il y'a des variabilités inter-laboratoires qui sont non négligeables(117). Chez la population d'étude de Froissard est noté un faible indice de masse corporel (IMC) et faible poids qui explique cette sur-estimation, cette constatation signalée par Froissard a été retrouvée dans notre étude comme on le verra plus loin et le dosage de la créatinine avec les deux techniques a été réalisé dans le même laboratoire sur le même appareil.

Toutes les études démontrent clairement la bonne performance de la formule MDRD dans la population de sujets avec un DFG inférieur à 60 ml/mn/1,73m², comme c'est le cas de notre sous population d'insuffisants rénaux.

Les résultats demeurent contradictoires dans les populations de sujets avec un DFG supérieur à 60 ml/mn/1,73m². Plusieurs raisons sont avancées pour expliquer cela ; d'abord la population d'étude d'origine constituée de patients avec insuffisance rénale chronique, le dosage de la créatinine dans des laboratoires différents source d'erreur du dosage de la créatinine, le facteur ethnique lié à la masse musculaire et en dernier, le régime faible en protéine et un faible indice de masse corporel (IMC).

DFGm vs CKD-Epi :

Le DFGm moyen est de $88,29 \pm 27,70$ ml/mn/1,73 m²

Technique enzymatique :

CKD-Epi enz. à $98,03 \pm 29,65$ ml/mn/1,73 m². Le biais absolu est de $9,72 \pm 20,21$ ml/mn/1,73 m², la P10 à 40% et la P30 à 81%.

Technique Jaffé cinétique :

CKD-Epi cin. à $99,13 \pm 29,23$. Le biais absolu est de $10,86 \pm 25,15$ ml/mn/1,73 m², la P10 à 34% et la P30 à 76%.

Le reproche fait à la formule MDRD est sa population de dérivation constituée de sujets présentant un DFG inférieur à 60ml/mn/1,73m² par conséquent ses performances dans les populations avec DFG supérieur à 60 ml/mn/1,73 m² sont limitées.

La formule CKD-Epi a été justement développée pour améliorer les performances dans les situations où DFG est supérieur à 60 ml/mn/1,73m².

La publication initiale dans le groupe de validation externe constitué de 1984 patients présentant un DFG supérieur à 60 ml/mn/1,73m², la formule CKD-Epi retrouve un biais absolu à $-3,5$ ml/mn/1,73m² et une P30 à 88,3%

Comparée à la formule MDRD, dont le biais est de -10 ml/mn/1,73m² et une P30 à 84,7%.(39)

Les résultats obtenus par notre étude sont complètement différents puisque le biais absolu retrouvé par cette formule montre au contraire une sur-estimation du DFG avec les deux techniques de dosage de la créatinine (enzymatique et Jaffé cinétique) qui sont je le rappelle, traçable en IDMS, avec un biais absolu de $9,72 \pm 21,21$ ml/mn/1,73m² pour la créatinine enzymatique et $10,86 \pm 25,15$ ml/mn/1,73m² pour la créatinine cinétique. L'exactitude à 10% (P10) est de 40% moins bonne que le MDRD et la P30 à 81% légèrement meilleure que le MDRD. Statistiquement, il n'y a aucune différence entre le MDRD et le CKD-Epi aussi bien pour la technique enzymatique que la technique Jaffé cinétique pour le dosage de la créatinine.

Les performances de la formule CKD-Epi chez les populations ayant un DFG supérieur à 60 ml/mn/1,73m² ont été largement étudiées et les résultats publiés(121) (122–129).

Les résultats étaient variables, certaines études rapportaient une sous-estimation du DFG avec des biais variant de -5 à -20 ml/mn/1,73m² (125,128,129), d'autres rapportaient des résultats équivalents (39,123,126,127,130).

Deux publications rapportaient une sur-estimation du DFG respectivement de 5 et 7 ml/mn/1,73 m²(122,124)

Chez les sujets avec un DFG inférieur à 60 ml/mn/1,73m² les performances de la formule CKD-Epi sont meilleures avec des biais variant entre - 2 et - 4 ml/mn/1,73m² et une P30 autour de 80%.(40, 119,127–130)

Deux études ont montré une sur-estimation du DFG avec des biais absolus de 8 et 13 ml/mn/1,73m² (135,136) avec une P30 de 64 et 59% respectivement.

Globalement, les performances de la formule CKD-Epi son meilleures dans les populations américaines et européennes contrairement à la nôtre, ceci peut être expliqué par le facteur ethnique mais aussi nutritionnel.

DFGm vs Cockcroft-Gault :

DFGm moyen est de 88,29 ± 27,70 ml/mn/1,73m²

Technique enzymatique :

Cockcroft enz. à 123,82 ± 53,9. Le biais absolu à 35,53 ± 45,40ml/mn/1,73m², la P10 à 24% et la P30 à 57%.

Technique de Jaffé cinétique :

Cockcroft cin. à 125,9 ± 54,6 ml/mn/1,73m². Le biais absolu 37,62 ± 46,40 ml/mn/1,73m² et la P10 à 16% et la P30 à 52%.

Les performances de la formule de Cockcroft-Gault ont été également largement évaluées par des études antérieures qui relevaient deux conclusions essentielles ; La première est que cette formule n'est pas

moins performante que la formule MDRD quand la population étudiée était sans insuffisance rénale. (105, 106,108–112)

Dans les populations avec insuffisance rénale, dont le DFG est inférieur à $60\text{ml/mn}/1,73\text{m}^2$, la formule de Cockcroft-Gault semble moins performante que le MDRD et la formule CKD-Epi. (118,137–140)

Dans notre étude les résultats sont très clairs dans la mesure où les résultats obtenus ne concordent absolument pas avec les données de la littérature et où nous constatons une sur-estimation importante du DFG avec des biais absolus de 35,53 et 37,61 $\text{ml/mn}/1,73\text{m}^2$ selon que l'on utilise la technique enzymatique ou Jaffé cinétique pour le dosage de la créatinine. Les P10 et les P30 sont aussi loin des résultats escomptés.

Dans notre sous population de sujets avec insuffisance rénale, le biais absolu est moins marqué mais toujours présent dans cette population constituée tout de même de 13 patients, ce qui rend toute conclusion hâtive en attendant la confirmation par d'autres études ultérieurement avec un effectif suffisant.

Il est difficile d'avancer une explication en dehors de celles qui sont connues. Cette formule évalue la clairance de la créatinine et non pas le débit de filtration glomérulaire, puisque le comparatif qui a été utilisé pour le développement de cette formule était la clairance urinaire de la créatinine avec toutes les erreurs connues de cette méthode, notamment la collecte des urines de 24 heures, la sécrétion et réabsorption de la créatinine au niveau tubulaire. Et enfin, le dosage de la créatinine dans notre étude a été réalisé par des méthodes standardisées et cette formule n'est pas spécifiquement adaptée pour être utilisée par des valeurs de créatinine standardisées.

12.6 Etude des facteurs spécifiques :

Trois facteurs ont été étudiés dans notre travail ; l'indice de masse corporel (mentionné sous l'abréviation BMI), le niveau de la fonction rénale subdivisée en trois niveau : niveau 1 $> 100\text{ml/mn}/1,73\text{m}^2$, Niveau 2 entre 60 et $100\text{ml/mn}/1,73\text{m}^2$ et le niveau 3 $< 60\text{ml/mn}/1,73\text{m}^2$ et le facteur ethnique.

12.6.1 Indice de masse corporel (BMI) :

Notre population a été partagée en deux groupes ; un groupe constitué de 58 sujets qui avaient un BMI supérieur à 25Kg/m² composé de 35 femmes et 23 hommes, d'âge moyen de 45 ans ± 11,6 et de poids moyen de 83 Kg ± 11,6.

Le deuxième groupe est constitué de 42 sujets avec un BMI inférieur à 25Kg/m² composé de 24 femmes et 18 hommes d'âge moyen de 39 ans ± 14,9 et de poids moyen de 65,8 Kg ± 8,6.

Les résultats obtenus sont les suivants :

12.6.1.1 Sous population avec BMI supérieur à 25 Kg/m² :

DFGm vs MDRD :

DFGm moyen de 85,3 ± 31 ml/mn/1,73 m²

Technique enzymatique :

MDRD enz. à 88,4 ± 37,0 ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à 3,1 ± 29,3 ml/mn/1,73 m², P10 à 48% et P30 à 74%.

Technique cinétique

MDRD cin. à 95,40 ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à 10,0 ± 39,3 ml/mn/1,73 m², P10 à 36% et P30 à 69%.

Avec les deux techniques de dosage de la créatinine on note un biais absolu moins prononcé entre DFGm et et la formule MDRD statistiquement non significatif avec des p values supérieure à 0,05.

DFGm vs CKD-Epi :

DFGm moyen de 85,3 ± 31 ml/mn/1,73 m²

Technique enzymatique :

CKD-Epi enz. à 90,3 ± 29,5 ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à 4,9 ± 24 ml/mn/1,73 m², P10 à 38% et P30 à 81%.

Technique Jaffé cinétique :

CKD-Epi cin. à 93,0 ± 30,0 ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à 7,7 ± 25,7 ml/mn/1,73 m², P10 à 34,5% et P 30 à 81%.

Aucune différence statistique entre le DFGm et la formule CKD-Epi avec les deux techniques de dosage de la créatinine avec des p values supérieures à 0,05.

DFGm vs Cockcroft-Gault :

DFGm moyen de $85,3 \pm 31$ ml/mn/1,73 m²

Technique enzymatique :

Cockcroft enz. à $123,4 \pm 56$ ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à $38,1 \pm 45$ ml/mn/1,73 m², P10 à 24% et P30 à 55%.

Technique Jaffé cinétique :

Cockcroft cin. à $130,3 \pm 62,4$ ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à $45 \pm 52,6$ ml/mn/1,73 m², P10 à 19% et P30 à 50%.

Statistiquement, il existe une différence très significative entre le DFGm et la formule de Cockcroft-Gault avec les deux techniques de dosage de la créatinine avec des p values inférieurs à 0,05.

12.6.1.2 Sous population avec BMI inférieur à 25 Kg/m² :

a) DFGm vs MDRD :

DFGm moyen de $92,7 \pm 23,0$ ml/mn/1,73 m²

Technique enzymatique :

MDRD enz. à $114,9 \pm 43,0$ ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à $22,2 \pm 38,6$ ml/mn/1,73 m², P10 à 35,7% et P30 à 71%.

Technique cinétique

MDRD cin. à $109,5$ ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à $16 \pm 27,07$ ml/mn/1,73 m², P10 à 31% et P30 à 64%.

Le biais absolu retrouvé entre le DFGm moyen et la formule MDRD est important à 22,2 et 16 ml/mn/1,73 m² respectivement avec la technique enzymatique et la technique cinétique p value sont inférieurs à 0,05.

b) DFGm vs CKD-Epi :

DFGm moyen de $92,7 \pm 23,0$ ml/mn/1,73 m²

Technique enzymatique :

CKD-Epi enz. à $108,6 \pm 26,6$ ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à $15,9 \pm 23,3$ ml/mn/1,73 m², P10 à 35% et P30 à 76%.

Technique Jaffé cinétique :

CKD-Epi cin. à $107,3 \pm 26,0$ ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à $14,6 \pm 24,1$ ml/mn/1,73 m², P10 à 31% et P 30 à 64%.

La différence est nettement significative entre le DFGm moyen et la formule de CKD-Epi avec les deux techniques de dosage de la créatinine avec des p values inférieur à 0,05.

c) DFGm vs Cockcroft-Gault :

DFGm moyen de $92,7 \pm 23,0$ ml/mn/1,73 m²

Technique enzymatique :

Cockcroft enz. à $126,3 \pm 51,3$ ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à $33,5 \pm 46,0$ ml/mn/1,73 m², P10 à 17% et P30 à 52%.

Technique Jaffé cinétique :

Cockcroft cin. à $121,3 \pm 51,3$ ml/mn/1,73 m², un biais absolu moyen à $28,6 \pm 33,6$ ml/mn/1,73 m², P10 à 21% et P30 à 48%.

Statistiquement, il existe une différence très significative entre le DFGm et la formule de Cockcroft-Gault avec les deux techniques de dosage de la créatinine avec des p values inférieurs à 0,05.

L'influence de l'indice de masse (BMI) a été évoquée dans la littérature dans deux publications. Frossard(107), dans une étude qu'il a publié en 2005, qui portait sur 162 donneurs vivants, qui avaient un DFGm moyen à 98 ml/mn/1,73 m² et 882 patients qui avaient une MRC dont le DFGm moyen était à 87 ml/mn/1,73 m². Il était l'un des rares auteurs à rapporter une sur-estimation du DFG par la formule MDRD, dans une population avec un DFG supérieur à 60 ml/mn/1,73 m², il remarquait que sa

population d'études avait un faible poids corporel et un IMC inférieur à 25 Kg/m².

La deuxième étude est celle réalisée au Mexique chez la population hispanique par José M. Arreola-Guerra (141) qui en évaluant les performances des deux formules d'estimation du DFG, la formule MDRD et CKD-Epi a retrouvé d'une part une sur-estimation du DFG par les deux formules, d'autre part, il signale dans sa publication une meilleure performance de la formule CKD-Epi avec un BMI élevé supérieur à 25 Kg/m².

Dans notre étude nous retrouvons l'influence positive d'un IMC supérieur à 25 Kg/m² sur les résultats de formule MDRD et CKD-Epi avec une meilleure exactitude et une meilleure précision.

12.6.2 Le facteur ethnique :

Le facteur ethnique a été largement discuté dans la littérature et son utilité débattu. Certains considèrent que le facteur race n'est pas nécessaire pour les équations d'estimation du débit de filtration glomérulaire(118) (119)

La HAS en France recommande l'utilisation de la formule CKD-Epi pour le dépistage, cette formule est considérée comme étant supérieure aux autres et de ne pas utiliser de facteur de correction si celui-ci n'est pas validé dans la population française (120)

Au Brésil, dans une étude qui a porté sur 230 sujets caucasiens pour 51,7%, biracial (caucasiens- africains) dans 39,1%, africains dans 7,8%, une évaluation des performances des formules d'estimation du DFG à savoir MDRD, CKD-Epi et Cockcroft-Gault a été réalisée. Ils notent une bonne corrélation entre le DFG mesuré par la clairance de l'iohexol et les formules d'estimation sans utilisation du facteur de correction racial (121), ceci est expliqué selon eux par l'absence de différence entre les concentrations de la créatinine chez les patients brésiliens toutes race confondues.(122)

En Angleterre, le même résultat est retrouvé entre les patients caucasiens et noirs, là aussi il n'y a pas de différence entre les concentrations de la créatinine entre les deux groupes ethniques. Ils concluent que le facteur ethnique sur-estime le DFG.(123) (116,148,149)

Les facteurs de correction ethniques du MDRD et CKD-Epi sont le produit d'une étude expérimentale déterminés à partir d'une population particulière, appartenant à une région particulière et que par conséquent, ces facteurs ne sauraient être appliqués dans toutes les autres régions selon Stevens.(127)

L'idée de développer un facteur de correction lié à ethnie a été adoptée par plusieurs auteurs, ceci est motivé par le fait que les études de développement des deux formules MDRD et CKD-Epi ont été faites avec des facteurs de correction liés à l'ethnie afro-américaine, les auteurs ont justifié cela par le fait que la production de la créatinine est dépendante de l'ethnie.(128)

Plusieurs pays ont développé leurs propres facteurs de correction pour la formule MDRD, c'est le cas des chinois (152), des japonais((153,154), et des thaïlandais.(135)

Flamand M. a développé un facteur de correction pour la formule CKD-Epi pour les afro-européens. (155)

Dans notre étude nous avons testé tous facteurs de correction afin d'apprécier leurs effets sur les performances de ces deux formules (MDRD et CKD-Epi).

Les résultats étaient plus que décevant, ainsi avec le facteur chinois qui est de 1,23, appliqué à la formule MDRD de nos patients a donné un biais absolu à $39,0 \pm 42,7$ ml/mn/ $1,73m^2$, P10 à 16% et P30 à 49% avec la créatinine enzymatique. Et $42,1 \pm 42,7$ ml/mn/ $1,73m^2$, P10 à 11% et P30 à 41% avec la créatinine Jaffé cinétique.

Avec le facteur Thaïlandais qui est de 1,129, son application à notre série nous a donné les résultats suivants avec la formule MDRD. Biais absolu créat enz./ créat cin. $23,6 \pm 38,7 / 25,7 \pm 39,0$ ml/mn/ $1,73m^2$, P10 à 34%/27% et P30 à 70%/56%.

Ce n'est pas mieux avec le facteur afro-américain dont la valeur est de 1,212, le biais absolu est de créat enz./crét cin. $32 \pm 41,5 / 34,0 \pm 41,8$ ml/mn/ $1,73m^2$, P10 à 22%/18% et P30 à 57%/47%.

Le seul facteur de correction qui a amélioré les résultats du MDRD chez nos patients est le facteur japonais dont la valeur est de 0,81.

Le biais montre une sous-estimation du DFG par la formule MDRD lorsqu'on lui applique le facteur de correction japonais avec un biais de -8/-6,5 ml/mn/1,73m², P10 à 35%/34% et la P30 à 78%/79%.

Les résultats sont également décevant lorsqu'on applique le facteur de correction afro-européen pour la formule CKD-Epi à notre population.

PARTIE V : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

13 Conclusion

Les formules d'estimation du débit de filtration glomérulaire ont été développées pour permettre un dépistage facile de l'insuffisance rénale chronique. La multiplication de publications remettant en cause leurs fiabilités dans certaines situations et dans certaines populations avec le développement de nombreux facteurs de correction qu'on a appelés facteurs ethniques nous a conduits à s'interroger sur la fiabilité de ces formules dans notre population en particulier et la population maghrébine en générale.

Ainsi, nous avons conduit une étude pour essayer d'esquisser quelques débuts de réponses pour la pratique quotidienne de l'évaluation du DFG dans notre population.

Les objectifs de notre étude étaient de développer une méthode de référence de mesure du débit de filtration glomérulaire dans un premier temps et d'évaluer les performances des formules d'estimation du celui-ci.

Nous avons réalisé un dosage de la créatinine par deux méthodes ; la méthode Jaffé cinétique et la méthode enzymatique qui sont toutes les deux traçables en IDMS pour savoir s'il peut y avoir une différence des résultats de la créatinine et du DFG estimé.

Notre étude a porté sur une population adulte de 100 sujets constituée de 60 femmes et 40 hommes de moyenne d'âge de $42,3 \pm 13,4$ ans qui sont pour la plupart des volontaires et des donneurs de reins potentiels, très peu de sujets avaient une atteinte rénale.

Il n'y avait aucune différence dans les résultats du dosage de la créatinine avec les deux techniques de même pour l'estimation du DFG avec les deux techniques de dosage de la créatinine.

L'objectif de mesure du DFG a été concrétisé par le dosage de l'iohexol avec la validation de la technique de dosage de celui-ci avec des coefficient de variabilité autour de 1% et un recouvrement proche de 100% sauf pour les concentration de $16 \mu\text{mol/ml}$.

Les performances des formules d'estimation du débit de filtration glomérulaires ont toutes montré une sur-estimation du DFG dans notre population d'étude avec un biais absolu moyen d'environ $10 \text{ ml/mn}/1,73\text{m}^2$

pour les formules MDRD et CKD-Epi et de 35 ml/mn/1,73m² pour la formule de Cockcroft-Gault avec les deux techniques de dosage de la créatinine.

Les explications avancées pour justifier la sur-estimation pour la formule MDRD sont; le dosage de la créatinine réalisé dans des laboratoires différents, le facteur ethnique ainsi que le faible poids corporel et un indice de masse corporel bas.

Dans notre population d'étude, le dosage de la créatinine a été réalisé dans le même laboratoire, sur le même appareil, ce qui exclu sa responsabilité dans la différence entre la formule MDRD et le DFGm.

Le faible poids corporel ainsi qu'un l'indice de masse corporel bas ont par contre majoré le biais entre la formule MDRD et le DFGm dans le sous-groupe avec un IMC inférieur à 25Kg/m², ces deux éléments sont peut-être responsable en partie de la différence entre la formule MDRD et le DFGm.

L'explication qui reste la plus probable à cette différence entre la formule MDRD et le DFGm est le facteur lié à la race représenté par la différence entre la masse musculaire de la population d'étude d'origine et notre population et peut être la différence de régime alimentaire.

Les mêmes arguments sont à avancer pour expliquer la différence entre la formule CKD-Epi et DFGm. Avec cette formule, il existe malgré le biais une meilleure estimation du DFG avec une exactitude à 30 % (P30) à 81% de même que la précision est meilleure avec cette formule dans notre population avec un écart-type autour de de 20 ml/mn/1,73 m² alors qu'il est de 35ml/mn/1,73m² avec la formule MDRD, cette formule est recommandé dans la littérature, HAS et KDOQI pour l'estimation du débit de filtration glomérulaire.

La formule de Cockcroft-Gault qui est utilisée depuis un demi-siècle, développée à partir d'une clairance urinaire de la créatinine est au vu des résultats obtenus est complètement dépassée et son utilisation doit être abandonnée dans notre population car elle engendre une sur-estimation importante du DFG.

Parmi tous les facteurs ethniques existants, le facteur japonais semble être le plus adapté pour corriger la formule MDRD appliquée à la

population algérienne en attendant de développer un facteur de correction propre à la population algérienne.

En attendant de trouver une meilleure solution à l'estimation du DFG, je suggère d'utiliser la formule de CKD-Epi qui semble plus appropriée de point de vu exactitude et précision.

14 Perspectives :

Ce modeste travail ouvre de nouvelles perspectives pour affiner encore mieux nos résultats, d'abord pour déterminer avec exactitude la fourchette normale du DFG dans notre population, pour cela une étude ultérieure paraît nécessaire afin de réaliser cet objectif. Cette étude doit comporter une cohorte de sujets en bonne santé qui servira de référentiel à notre population.

L'application des facteurs ethniques développés et publiés dans la littérature n'a pas donné des résultats escomptés, c'est pourquoi des études ultérieures avec des cohortes pour le développement et des cohortes pour la validation d'un facteur ethnique propre à notre population paraissent nécessaires.

Une autre idée de développement d'une nouvelle formule d'estimation du DFG est en réflexion avec une approche nouvelle basée sur la bio-impédance.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Krutzén E, Bäck SE, Nilsson-Ehle P. Determination of glomerular filtration rate using iohexol clearance and capillary sampling. *Scand J Clin Lab Invest.* mai 1990 ; 50(3) :279-83.
2. Reichel H, Deibert B, Schmidt-Gayk H, Ritz E. Calcium Metabolism in Early Chronic Renal Failure : Implications for the Pathogenesis of Hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant.* 1 janv 1991 ; 6(3) :162-9.

Disponible sur : <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/6.3.162>

3. McClellan W, Aronoff SL, Bolton WK, Hood S, Lorber DL, Tang KL, et al. The prevalence of anemia in patients with chronic kidney disease. *Curr Med Res Opin [Internet].* sept 2004 ; 20(9) :1501-10.

Disponible sur : <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1185/030079904X2763>

4. KDIGO_2012_CKD_GL.pdf

Disponible sur : https://kdigo.org/wp-content/uploads/2017/02/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf

5. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C yuan. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med.* 23 sept 2004 ; 351(13) :1296-305.
6. Schlackow I, Kent S, Herrington W, Emberson J, Haynes R, Reith C, et al. A policy model of cardiovascular disease in moderate-to-advanced chronic kidney disease. *Heart Br Card Soc.* déc 2017 ; 103(23) :1880-90.
7. Cooper BA, Branley P, Bulfone L, Collins JF, Craig JC, Fraenkel MB, et al. A Randomized, Controlled Trial of Early versus Late Initiation of Dialysis. *N Engl J Med.* 12 août 2010 ; 363(7) :609-19.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1000552>

8. National Kidney Foundation. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease : evaluation, classification and stratification. New York : National Kidney Foundation ; 2002.

9. Anatomie des reins et de la voie excrétrice supérieure - EM consulte.

Disponible sur : <https://www.em-consulte.com/article/179610/anatomie-des-reins-et-de-la-voie-excretrice-superi>

10. Wesson LG. Physiology of the human kidney, New York : Grune & Stratton ; 1969.
11. Bignon Y. Physiologie et physiopathologie des transports transépithéliaux du tubule proximal : mise en évidence du rôle de la sous-unité Kir4.2 et analyse d'un mutant de ClC-5 impliqué dans la maladie de Dent : 252.

12. Gueutin V, Deray G, Isnard-Bagnis C. Physiologie rénale. Bull Cancer (Paris) [Internet]. mars 2012 ; 99(3) :237-49.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007455115304732>

13. Filler G. L. Goldman and D. Ausiello : Cecil's textbook of medicine, 22nd edn. Pediatr Nephrol [Internet]. 2004 ; 19(9).

Disponible sur : https://www.academia.edu/25297287/L_Goldman_and_D_Ausiello_Cecil_s_

14. Koeppen BM, Stanton BA. Berne & Levy Physiology. 7e édition. Philadelphia, PA : Elsevier - Health Sciences Division ; 2017. 880 p.

15. 10-NÉPHROPATHIES GLOMÉRULAIRES - [Manuel de NÉPHROLOGIE 8 e édition].

Disponible sur : <http://cuen.fr/manuel/spip.php?article11>

16. Masson E. Physiologie rénale. EM-Consulte.

Disponible sur : <https://www.em-consulte.com/article/22589/physiologie-renale>

17. Moulin B, Rieu P. Néphrologie. 9e éd. conforme à la réforme des ECNi-EDN. Paris : Ellipses ; 2020. (ECNi, les référentiels).

18. Delanaye P, Maillard N, Thibaudin L, Mariat C. Exploration de la fonction glomérulaire rénale (I). Méthodes de référence et créatinine sérique. EMC - Néphrologie. janv 2006 ; 1(1) :1-10.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S176209451144016X>

19. Rehberg PB. Studies on Kidney Function : The Rate of Filtration and Reabsorption in the Human Kidney. Biochem J. 1926 ; 20(3) :447-60.

20. Bröchner-Mortensen J. A simple method for the determination of glomerular filtration rate. Scand J Clin Lab Invest. nov 1972 ; 30(3) :271-4.

21. Chantler C, Garnett ES, Parsons V, Veall N. Glomerular filtration rate measurement in man by the single injection methods using 51Cr-EDTA. Clin Sci. août 1969 ; 37(1) :169-80.

22. Delanghe JR, Speeckaert MM. Creatinine determination according to Jaffe-what does it stand for ? NDT Plus. avr 2011 ; 4(2) :83-6.

23. Creatinine : Past and present.

Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/46427084>

24. Delanaye P, Cavalier E, Saint-Remy A, Lutteri L, Krzesinski jean marie. Discrepancies between creatinine-based and cystatin C-based equations in estimating prevalence of

stage 3 chronic kidney disease in an elderly population. Scand J Clin Lab Invest. 1 mai 2009 ; 69 :344-9.

25. Delanaye P, Cavalier E, Maillard N, Krzesinski JM, Mariat C, Cristol JP, et al. La créatinine : d'hier à aujourd'hui. Ann Biol Clin (Paris). sept 2010 ; 68(5) :531-43.

Disponiblesur : <http://www.john-libbey-eurotext.fr/medline.md?doi=10.1684/>

26. Delanaye P, Cavalier E, Moranne O, Lutteri L, Krzesinski JM, Bruyère O. Creatinine-or cystatin C-based equations to estimate glomerular filtration in the general population : impact on the epidemiology of chronic kidney disease. BMC Nephrol. 12 mars 2013 ; 14(1) :57.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/1471-2369-14-57>

27. Hunter A. Creatine and creatinine,. London, New York: Longmans, Green and Co. Ltd.; 1928.

28. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. Clin Chem. oct 1992;38(10):1933-53.

29. Parry DM. Use of single-value protein compensation of the Jaffe creatinine assay contributes to clinically significant inaccuracy in results. Clin Chem. janv 2008;54(1):215-6.

30. Cook JG, Association of clinical Biochemists' Scientific and Technica Committee. Factors influencing the assay of creatinine. Ann Clin Biochem. nov 1975;12(6):219-32.

31. Ld B, Et W. Kinetic serum creatinine assays. II. A critical evaluation and review. Clin Chem. avr 1980 ; 26(5). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7020989/>

32. Lustgarten JA, Wenk RE. Simple, rapid, kinetic method for serum creatinine measurement. Clin Chem. nov 1972;18(11):1419-22.

33. Miller BF, Leaf A, Mamby AR, Miller Z. VALIDITY OF THE ENDOGENOUS CREATININE CLEARANCE AS A MEASURE OF GLOMERULAR FILTRATION RATE IN THE DISEASED HUMAN KIDNEY 12. J Clin Invest [Internet]. 1 mars 1952 [cité 18 juin 2022];31(3):309-13. Disponible sur: <http://www.jci.org/articles/view/102607>

34. Suzuki M. Purification and some properties of sarcosine oxidase from Corynebacterium sp. U-96. J Biochem (Tokyo). févr 1981;89(2):599-607.

35. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. Clin Chem. août 1983;29(8):1494-6.

36. Cocchetto DM, Tschanz C, Bjornsson TD. Decreased rate of creatinine production in patients with hepatic disease: implications for estimation of creatinine clearance. Ther Drug Monit. juin 1983;5(2):161-8.

37. Heymsfield SB, Arteaga C, McManus C, Smith J, Moffitt S. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr.* mars 1983;37(3):478-94.
38. Walser M. Assessing renal function from creatinine measurements in adults with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* juill 1998;32(1):23-31.
39. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 5 mai 2009;150(9):604-12.
40. Mayersohn M, Conrad KA, Achari R. The influence of a cooked meat meal on creatinine plasma concentration and creatinine clearance. *Br J Clin Pharmacol.* févr 1983;15(2):227-30.
41. Delanaye P. L'intérêt de la cystatine C dans l'évaluation de la fonction rénale. 2003;24:12.
42. Cystatin C versus Creatinine for Kidney Function–Based Risk. *N Engl J Med.* 19 déc 2013 ; 369(25) :2457-9.

Disponible sur : <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc1312801>

43. Delanaye P, Chapelle JP, Gielen J, Krzesinski JM, Rorive G. [Cystatin C in the evaluation of renal function]. *Nephrologie.* 2003;24(8):457-68.
44. Maillard N, Delanaye P, Mariat C. [Exploration of renal glomerular function: estimation of glomerular filtration rate]. *Nephrol Ther.* févr 2015;11(1):54-67.
45. Prigent A. [Measurement of renal function in clinical practice: principles and limitations]. *J Radiol.* avr 2011;92(4):274-9.
46. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976;16(1):31-41.
47. Levey AS. A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. *Ann Intern Med* [Internet]. 16 mars 1999 [cité 11 juin 2022];130(6):461. Disponible sur: <http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/0003-4819-130-6-199903160-00002>
48. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 15 août 2006;145(4):247-54.
49. Piéroni L, Delanaye P, Boutten A, Bargnoux AS, Rozet E, Delatour V, et al. A multicentric evaluation of IDMS-traceable creatinine enzymatic assays. *Clin Chim Acta.* nov 2011 ; 412(23-24) :2070-5.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898111004104>

50. Van Biesen W, Vanholder R, Veys N, Verbeke F, Delanghe J, De Bacquer D, et al. The importance of standardization of creatinine in the implementation of guidelines and recommendations for CKD: implications for CKD management programmes. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* janv 2006;21(1):77-83.

51. Van Acker BA, Koomen GC, Arisz L. Drawbacks of the constant-infusion technique for measurement of renal function. *Am J Physiol-Ren Physiol [Internet].* 1 avr 1995 [cité 11 juin 2022] ; 268(4) :F543-52.

Disponible sur : <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajprenal.1995.268.4.F543>

52. van Westen D, Almén T, Chai C ming, Frennby B, Månsson S, Sterner G. Biliary and total extrarenal clearance of inulin and iohexol in pigs. A source of error when determining gfr as body clearance. *Nephron.* juin 2002;91(2):300-7.

53. Rogers KS, Komkov A, Brown SA, Lees GE, Hightower D, Russo EA. Comparison of four methods of estimating glomerular filtration rate in cats. *Am J Vet Res.* juin 1991;52(6):961-4.

54. Miyamoto K. Evaluation of Single-Injection Method of Inulin and Creatinine as a Renal Function Test in Normal Cats. *J Vet Med Sci.* 1998 ; 60(3):327-32.

Disponible sur : http://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/60/3/60_3_327/_article

55. Rahn KH, Heidenreich S, Brückner D. How to assess glomerular function and damage in humans : *J Hypertens.* mars 1999;17(3):309-17.

Disponible sur : <http://journals.lww.com/00004872-199917030-00002>

56. Hellerstein S, Berenbom M, Alon U, Warady BA. The renal clearance and infusion clearance of inulin are similar, but not identical. *Kidney Int.* nov 1993 ;44(5):1058-61.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S008525381558229X>

57. Baccard N, Hoizey G, Frances C, Lamiable D, Trenque T, Millart H. Simultaneous determination of inulin and p-aminohippuric acid (PAH) in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *The Analyst.* 1999 ; 124(6) :833-6.

Disponible sur : <http://xlink.rsc.org/?DOI=a902009h>

58. The Kidney: Structure and Function in Health and Disease. *Postgrad Med J.* mars 1952 ; 28(317) :191-2.

Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2530670/>

59. Prescott LF, Freestone S, McAuslane JAN. Reassessment of the single intravenous injection method with inulin for measurement of the glomerular filtration rate in man. *Clin Sci.* 1 févr 1991 ; 80(2) :167-76.

Disponible sur : <https://portlandpress.com/clinsci/article/80/2/167/75301/Reassessment-of-the-single-intravenous-injection>

60. Bäck SE, Krutzén E, Nilsson-Ehle P. Contrast media as markers for glomerular filtration: a pharmacokinetic comparison of four agents. *Scand J Clin Lab Invest.* mai 1988;48(3):247-53.
61. Earle DP, Berliner RW. A simplified clinical procedure for measurement of glomerular filtration rate and renal plasma flow. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N.* juin 1946;62(2):262-4.
62. Florijn KW, Barendregt JNM, Lentjes EGWM, van Dam W, Prodjosudjadi W, van Saase JLCM, et al. Glomerular filtration rate measurement by "single-shot" injection of inulin. *Kidney Int* elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815585487
63. Orlando R, Floreani M, Padrini R, Palatini P. Determination of inulin clearance by bolus intravenous injection in healthy subjects and ascitic patients: equivalence of systemic and renal clearances as glomerular filtration markers. *Br J Clin Pharmacol.* déc 1998;46(6):605-9.
64. Sterner G, Frennby B, Mansson S, Nyman U, Van Westen D, Almén T. Determining 'true' glomerular filtration rate in healthy adults using infusion of inulin and comparing it with values obtained using other clearance techniques or prediction equations. *Scand J Urol Nephrol.* 1 janv 2008 ; 42(3) :278-85.

Disponible sur : <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365590701701806>

65. Delanaye P, Ebert N, Melsom T, Gaspari F, Mariat C, Cavalier E, et al. Iohexol plasma clearance for measuring glomerular filtration rate in clinical practice and research: a review. Part 1: How to measure glomerular filtration rate with iohexol? *Clin Kidney J.* oct 2016;9(5):682-99.
66. Brändström E, Grzegorzczak A, Jacobsson L, Friberg P, Lindahl A, Aurell M. GFR measurement with iohexol and 51Cr-EDTA. A comparison of the two favoured GFR markers in Europe. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* mai 1998;13(5):1176-82.
67. Sc B, Ph O. Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate in clinical practice: evidence for a new gold standard. *J Urol.* sept 1991 ; 146(3).

Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1875470/>

68. A S, M T, N B, B C, K M. Application of an isocratic methanol-based HPLC method for the determination of iohexol concentrations and glomerular filtration rate in patients with cirrhosis. *Ann Clin Biochem.* janv 2014 ; 51(Pt 1).

Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23847035/>

69. Soveri I, Berg UB, Björk J, Elinder CG, Grubb A, Mejare I, et al. Measuring GFR: A Systematic Review. *Am J Kidney Dis.* sept 2014 ; 64(3) :411-24.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272638614007343>

70. Cavalier E, Rozet E, Dubois N, Charlier C, Hubert P, Chapelle JP, et al. Performance of iohexol determination in serum and urine by HPLC: validation, risk and uncertainty assessment. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* oct 2008;396(1-2):80-5.

71. peter Nilsson. Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate: 15 years' experience in clinical practice. *EJIFCC2001Vol13No2pp048-052.* 22 juill 2001;13(02):48-52.

72. Gaspari F, Thakar S, Carrara F, Perna A, Trillini M, Aparicio MC, et al. Safety of Iohexol Administration to Measure Glomerular Filtration Rate in Different Patient Populations: A 25-Year Experience. *Nephron.* 2018 ; 140(1) :1-8.

Disponible sur : <https://www.karger.com/Article/FullText/489898>

73. Schwartz GJ, Furth S, Cole SR, Warady B, Muñoz A. Glomerular filtration rate via plasma iohexol disappearance: pilot study for chronic kidney disease in children. *Kidney Int.* juin 2006;69(11):2070-7.

74. Visser FW, Muntinga JHJ, Dierckx RA, Navis G. Feasibility and impact of the measurement of extracellular fluid volume simultaneous with GFR by 125I-iothalamate. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* sept 2008;3(5):1308-15.

75. L N, P D, C LG, S P, É C. A simple LC-MS method for the determination of iohexol and iothalamate in serum, using ioversol as an internal standard. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 12 janv 2016 ; 463. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27756544/>

76. Ft M, Ng N, Lr E. Comparison of simultaneous clearances of 125-I-labeled sodium iothalamate (Glofil) and of inulin. *Mayo Clin Proc [Internet].* oct 1971 [cité 13 juin 2022];46(10). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5115749/>

77. Perrone RD, Steinman TI, Beck GJ, Skibinski CI, Royal HD, Lawlor M, et al. Utility of radioisotopic filtration markers in chronic renal insufficiency: simultaneous comparison of 125I-iothalamate, 169Yb-DTPA, 99mTc-DTPA, and inulin. *The Modification of Diet in Renal Disease Study. Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* sept 1990;16(3):224-35.

78. P H, Jj NH, B B, E C, P C, N C, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal--Part I. *J Pharm Biomed Anal.* 15 nov 2004 ; 36(3). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15522533/>

79. Hubert P, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, et al. Validation des procédures analytiques quantitatives, Harmonisation des démarches. *STP Pharma Prat.* mai 2003 ;13(3).

80. Pottel H, Delanaye P, Schaeffner E, Dubourg L, Eriksen BO, Melsom T, et al. Estimating glomerular filtration rate for the full age spectrum from serum creatinine and cystatin C. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 15 janv 2017 [cité 13 juin 2022];gfw425. Disponible sur: <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfw425>

81. Du Bois D, Du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. oct 1989;5(5):303-11; discussion 312-313.

82. Martin Bland J, Altman DouglasG. STATISTICAL METHODS FOR ASSESSING AGREEMENT BETWEEN TWO METHODS OF CLINICAL MEASUREMENT. *The Lancet*. févr 1986 ; 327(8476) :307-10.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673686908378>

83. Chowdhury TA, Dyer PH, Bartlett WA, Legge ES, Durbin SM, Barnett AH, et al. Glomerular filtration rate determination in diabetic patients using iohexol clearance--comparison of single and multiple plasma sampling methods. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. oct 1998;277(2):153-8.

84. Prigent A. Mesures de la performance rénale en clinique : principes et limites. *J Radiol*. avr2011 ; 92(4) :274-9.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0221036311001077>

85. K R, D F, R S. Determination of glomerular filtration rate (GFR) by analysis of capillary blood after single shot injection of 99mTc-DTPA. A comparison with simultaneous 125I-iothalamate GFR estimation showing equal GFR but difference in distribution volume. *Eur J Nucl Med*. avr 1980 ; 5(2).

Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7379823/>

86. Odland B, Hällgren R, Sohtell M, Lindström B. Is 125I iothalamate an ideal marker for glomerular filtration? *Kidney Int*. janv 1985;27(1):9-16.

87. C Z. Mechanism of renal excretion of various X-ray contrast materials in rabbits. *Invest Radiol*. avr 1984 ; 19(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6533099/>

88. J E, D S, G P. Pharmacokinetics of iohexol, a new nonionic radiocontrast agent, in humans. *J Pharm Sci* [Internet] [Im.nih.gov/6470969/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6470969/)

89. Olsson B, Aulie Å, Sveen K, Andrew E. Human Pharmacokinetics of Iohexol: A New Nonionic Contrast Medium. *Invest Radiol*. mars 1983 ; 18(2) :177-82. Disponible sur: <http://journals.lww.com/00004424-198303000-00015>

90. Arvidsson A, Hedman A. Plasma and renal clearance of iohexol--a study on the reproducibility of a method for the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest*. nov 1990;50(7):757-61.

91. Sterner G, Frennby B, Hultberg B, Almen T. Iohexol clearance for GFR-determination in renal failure--single or multiple plasma sampling? *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* mars 1996;11(3):521-5.
92. Pucci L, Bandinelli S, Penno G, Nannipieri M, Rizzo L, Navalesi R. Iohexol plasma clearance in determining glomerular filtration rate in diabetic patients. *Ren Fail.* mars 1998;20(2):277-84.
93. Nilsson-Ehle P, Grubb A. New markers for the determination of GFR: iohexol clearance and cystatin C serum concentration. *Kidney Int Suppl.* nov 1994;47:S17-19.
94. Heron CW, Underwood SR, Dawson P. Electrocardiographic changes during intravenous urography: a study with sodium iothalamate and iohexol. *Clin Radiol.* mars 1984;35(2):137-41.
95. Gaspari F, Perico N, Ruggenti P, Mosconi L, Amuchastegui CS, Guerini E, et al. Plasma clearance of nonradioactive iohexol as a measure of glomerular filtration rate. *J Am Soc Nephrol JASN.* août 1995;6(2):257-63.
96. Bäck SE, Masson P, Nilsson-Ehle P. A simple chemical method for the quantification of the contrast agent iohexol, applicable to glomerular filtration rate measurements. *Scand J Clin Lab Invest.* déc 1988;48(8):825-9.
97. Eriksson CG, Kallner A. Glomerular filtration rate: a comparison between Cr-EDTA clearance and a single sample technique with a non-ionic contrast agent. *Clin Biochem.* juin 1991;24(3):261-4.
98. Bird NJ, Peters C, Michell AR, Peters AM. Comparison of GFR measurements assessed from single versus multiple samples. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* août 2009;54(2):278-88.
99. Delanaye P, Melsom T, Ebert N, Bäck SE, Mariat C, Cavalier E, et al. Iohexol plasma clearance for measuring glomerular filtration rate in clinical practice and research: a review. Part 2: Why to measure glomerular filtration rate with iohexol? *Clin Kidney J.* oct 2016;9(5):700-4.
100. Rozet E, Ceccato A, Hubert C, Ziemons E, Oprean R, Rudaz S, et al. Analysis of recent pharmaceutical regulatory documents on analytical method validation. *J Chromatogr A.* juill 2007 ; 1158(1-2) :111-25.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967307004396>

101. Hubert Ph, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon PA, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. *J Pharm Biomed Anal.* sept 2007 ; 45(1) :82-96.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0731708507003895>

102. Hubert Ph, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon PA, et al. Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal. *J Pharm Biomed Anal.* nov 2008 ; 48(3) :760-71.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0731708508003956>

103. Programme d'accréditation des laboratoires d'analyse (Québec). Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie. 2015.

Disponible sur : <http://collections.banq.qc.ca/ark:/52327/2458384>

104. Greg Miller W, Myers GL, Ashwood ER, Killeen AA, Wang E, Thienpont LM, et al. Creatinine Measurement: State of the Art in Accuracy and Interlaboratory Harmonization. *Arch Pathol Lab Med.* 1 mars 2005 ; 129(3):297-304.

Disponible sur : <https://meridian.allenpress.com/aplm/article/129/3/297/459085/>

105. Masson E. Principes de la spectrométrie de masse [Internet]. EM-Consulte. [cité 22 juin 2022].

Disponible sur : <https://www.em-consulte.com/article/678574/>

106. Héту PO, Gingras MÈ, Vinet B. Development and validation of a rapid liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry (LC-IDMS/MS) method for serum creatinine. *Clin Biochem.* sept 2010 ; 43(13-14) :1158-62.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912010002699>

107. Froissart MC, Rossert J, Houillier P. The New Mayo Clinic Equation for Estimating Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med.* 19 avr 2005 ; 142(8):679.

Disponible sur : <http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/0003-4819-142-8-200504190-00028>

108. Maillard N, Delanaye P, Mariat C. Exploration de la fonction glomérulaire rénale : estimation du débit de filtration glomérulaire. *Néphrologie Thérapeutique.* févr 2015 ; 11(1) :54-67.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1769725515000140>

109. Rigalleau V, Lasseur C, Perlemoine C, Barthe N, Raffaitin C, Liu C, et al. Estimation of Glomerular Filtration Rate in Diabetic Subjects. *Diabetes Care.* 1 avr 2005 ; 28(4):838-43. Disponible sur: <https://diabetesjournals.org/care/article/28/4/838/23677/Estimation-of-Glomerular-Filtration-Rate-in>

110. Bostom AG, Kronenberg F, Ritz E. Predictive Performance of Renal Function Equations for Patients with Chronic Kidney Disease and Normal Serum Creatinine Levels. *J Am Soc Nephrol.* août 2002 ; 13(8) :2140-4.

Disponible

sur : <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1097/01.ASN.0000022011.35035.F3>

111. Lin J, Knight EL, Hogan ML, Singh AK. A comparison of prediction equations for estimating glomerular filtration rate in adults without kidney disease. *J Am Soc Nephrol JASN*. oct 2003;14(10):2573-80.

112. Rule AD, Gussak HM, Pond GR, Bergstralh EJ, Stegall MD, Cosio FG, et al. Measured and estimated GFR in healthy potential kidney donors. *Am J Kidney Dis*. janv 2004 ; 43(1) :112-9.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272638603012496>

113. Poggio ED, Wang X, Greene T, Van Lente F, Hall PM. Performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault Equations in the Estimation of GFR in Health and in Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*. févr 2005 ; 16(2) :459-66.

Disponible sur : <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2004060447>

114. Ibrahim H, Mondress M, Tello A, Fan Y, Koopmeiners J, Thomas W. An Alternative Formula to the Cockcroft-Gault and the Modification of Diet in Renal Diseases Formulas in Predicting GFR in Individuals with Type 1 Diabetes. *J Am Soc Nephrol [Internet]*. avr 2005 ; 16(4) :1051-60.

Disponible sur : <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2004080692>

115. Verhave JC, Fesler P, Ribstein J, du Cailar G, Mimran A. Estimation of Renal Function in Subjects With Normal Serum Creatinine Levels: Influence of Age and Body Mass Index. *Am J Kidney Dis [Internet]*. août 2005 ; 46(2) :233-41.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272638605006256>

116. Bukabau JB, Yayo E, Gnionsahé A, Monnet D, Pottel H, Cavalier E, et al. Performance of creatinine- or cystatin C-based equations to estimate glomerular filtration rate in sub-Saharan African populations. *Kidney Int [Internet]*. mai 2019 ; 95(5) :1181-9.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253819300420>

117. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive Performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault Equations for Estimating Renal Function. *J Am Soc Nephrol [Internet]*. mars 2005 [cité 22 juin 2022];16(3):763-73.
Disponible sur : <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2004070549>

118. Cirillo M, Anastasio P, De Santo NG. Relationship of gender, age, and body mass index to errors in predicted kidney function. *Nephrol Dial Transplant [Internet]*. 1 sept 2005 ; 20(9) :1791-8.

Disponible sur : <http://academic.oup.com/ndt/article/20/9/1791/1850343/Relationship-of-gender-age-and-body-mass-index-to>

119. Srinivas S, Annigeri RA, Mani MK, Rao BS, Kowdle PC, Seshadri R. Estimation of glomerular filtration rate in South Asian healthy adult kidney donors. *Nephrology* [Internet]. août 2008 ; 13(5) :440-6. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1440-1797.2008.00967.x>
120. Grubb A, Nyman U, Björk J, Lindström V, Rippe B, Sterner G, et al. Simple Cystatin C–Based Prediction Equations for Glomerular Filtration Rate Compared with the Modification of Diet in Renal Disease Prediction Equation for Adults and the Schwartz and the Counahan–Barratt Prediction Equations for Children. *Clin Chem*. 1 août 2005 ; 51(8) :1420-31.
- Disponible sur : <https://academic.oup.com/clinchem/article/51/8/1420/5629953>
121. Eriksen BO, Mathisen UD, Melsom T, Ingebretsen OC, Jenssen TG, Njølstad I, et al. The Role of Cystatin C in Improving GFR Estimation in the General Population. *Am J Kidney Dis*. janv 2012 ; 59(1) :32-40.
- Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272638611013199>
122. Iliadis F, Didangelos T, Ntemka A, Makedou A, Moralidis E, Gotzamani-Psarakou A, et al. Glomerular filtration rate estimation in patients with type 2 diabetes: creatinine- or cystatin C-based equations? *Diabetologia*. déc 2011;54(12):2987-94.
123. Cirillo M, Lombardi C, Luciano MG, Bilancio G, Anastasio P, De Santo NG. Estimation of GFR: a comparison of new and established equations. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. oct 2010;56(4):802-4.
124. Michels WM, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliott EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and new CKD-EPI formulas in relation to GFR, age, and body size. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. juin 2010;5(6):1003-9.
125. Tent H, Rook M, Stevens LA, van Son WJ, van Pelt LJ, Hofker HS, et al. Renal function equations before and after living kidney donation: a within-individual comparison of performance at different levels of renal function. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. nov 2010;5(11):1960-8.
126. Redal-Baigorri B, Stokholm KH, Rasmussen K, Jeppesen N. Estimation of kidney function in cancer patients. *Dan Med Bull*. févr 2011;58(2):A4236.
127. Jones GRD. Use of the CKD-EPI equation for estimation of GFR in an Australian cohort. *Pathology (Phila)*. 2010;42(5):487-8.
128. Silveiro SP, Araújo GN, Ferreira MN, Souza FDS, Yamaguchi HM, Camargo EG. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation pronouncedly underestimates glomerular filtration rate in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. nov 2011;34(11):2353-5.
129. Orskov B, Borresen ML, Feldt-Rasmussen B, Østergaard O, Laursen I, Strandgaard S. Estimating glomerular filtration rate using the new CKD-EPI equation and other

equations in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Nephrol.* 2010;31(1):53-7.

130. Eriksen BO, Mathisen UD, Melsom T, Ingebretsen OC, Jenssen TG, Njølstad I, et al. Cystatin C is not a better estimator of GFR than plasma creatinine in the general population. *Kidney Int.* déc 2010;78(12):1305-11.
131. Björk J, Jones I, Nyman U, Sjöström P. Validation of the Lund-Malmö, Chronic Kidney Disease Epidemiology (CKD-EPI) and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) equations to estimate glomerular filtration rate in a large Swedish clinical population. *Scand J Urol Nephrol.* juin 2012;46(3):212-22.
132. Buron F, Hadj-Aissa A, Dubourg L, Morelon E, Steghens JP, Ducher M, et al. Estimating glomerular filtration rate in kidney transplant recipients: performance over time of four creatinine-based formulas. *Transplantation.* 15 nov 2011;92(9):1005-11.
133. Nyman U, Grubb A, Sterner G, Björk J. The CKD-EPI and MDRD equations to estimate GFR. Validation in the Swedish Lund-Malmö Study cohort. *Scand J Clin Lab Invest.* avr 2011;71(2):129-38.
134. Lane BR, Demirjian S, Weight CJ, Larson BT, Poggio ED, Campbell SC. Performance of the chronic kidney disease-epidemiology study equations for estimating glomerular filtration rate before and after nephrectomy. *J Urol.* mars 2010;183(3):896-901.
135. Praditpornsilpa K, Townamchai N, Chaiwatanarat T, Tiranathanagul K, Katawatin P, Susantitaphong P, et al. The need for robust validation for MDRD-based glomerular filtration rate estimation in various CKD populations. *Nephrol Dial Transplant.* 1 sept 2011 ; 26(9) :2780-5.

Disponible sur : <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfq815>

136. Pöge U, Gerhardt T, Stoffel-Wagner B, Sauerbruch T, Woitas RP. Validation of the CKD-EPI formula in patients after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* déc 2011;26(12):4104-8.
137. Lewis J, Agodoa L, Cheek D, Greene T, Middleton J, O'Connor D, et al. Comparison of cross-sectional renal function measurements in African Americans with hypertensive nephrosclerosis and of primary formulas to estimate glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* oct 2001;38(4):744-53.
138. Hallan S, Asberg A, Lindberg M, Johnsen H. Validation of the Modification of Diet in Renal Disease formula for estimating GFR with special emphasis on calibration of the serum creatinine assay. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* juill 2004;44(1):84-93.
139. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, Paillard M, Houillier P. Predictive Performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault Equations for Estimating Renal Function. *J Am Soc Nephrol.* mars 2005 ; 16(3) :763-73. Disponible sur: <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2004070549>

140. Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. *Ann Intern Med.* 21 déc 2004;141(12):929-37.

141. José M. Arreola-Guerra, Rodolfo Rincón-Pedrero, Cristino Cruz-Rivera, Teresa Belmont-Pérez, Ricardo Correa-Rotter, José A. Niño-Cruz. Performance of MDRD-IDMS and CKD-EPI equations in Mexican individuals with normal renal function. *Nefrol* 2014;34(5):591-8. 20 mars 2014;34(5):591-8.

142. Franks CE, Scott MG. On the Basis of Race: The Utility of a Race Factor in Estimating Glomerular Filtration. *J Appl Lab Med.* 12 janv 2021 ; 6(1) :155-66.

Disponible sur : <https://academic.oup.com/jalm/article/6/1/155/6000422>

143. Kuppachi S, Norman SP, Lentine KL, Axelrod DA. Using race to estimate glomerular filtration and its impact in kidney transplantation. *Clin Transplant.* janv 2021 ; 35(1).

Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ctr.14136>

144. summary_creatinine.pdf.

Disponible sur : <https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2012->

145. Zanocco JA, Nishida SK, Passos MT, Pereira AR, Silva MS, Pereira AB, et al. Race Adjustment for Estimating Glomerular Filtration Rate Is Not Always Necessary. *Nephron Extra.* 1 déc 2012 ; 2(1) :293-302.

Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3521477/>

146. Barcellos RC de B, Matos JPS de, Kang HC, Rosa MLG, Lugon JR. Comparison of serum creatinine levels in different color/race categories in a Brazilian population. *Cad Saúde Pública.* juill 2015 ; 31(7) :1565-9.

Disponible sur : http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid

147. Roberts AL, Ferraro A, Green A, Loughna P, Broughton-Pipkin F. Adjustment for race in the estimation of glomerular filtration rate (GFR) is inappropriate in the British postnatal population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* mai 2014 ; 176 :200-1.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301211514000797>

148. van Deventer HE, George JA, Paiker JE, Becker PJ, Katz IJ. Estimating Glomerular Filtration Rate in Black South Africans by Use of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault Equations. *Clin Chem [Internet].* 1 juill 2008 ; 54(7) :1197-202. Disponible sur: <https://academic.oup.com/clinchem/article/54/7/1197/5628583>

149. Madala ND, Nkwanyana N, Dubula T, Naiker IP. Predictive performance of eGFR equations in South Africans of African and Indian ancestry compared with 99mTc-DTPA imaging. *Int Urol Nephrol [Internet].* juin 2012 ; 44(3) :847-55.

Disponible sur : <http://link.springer.com/10.1007/s11255-011-9928-7>

150. Stevens LA, Claybon MA, Schmid CH, Chen J, Horio M, Imai E, et al. Evaluation of the CKD-EPI Equation in Multiple Races and Ethnicities. *Kidney Int.* mars 2011 ; 79(5) :55562.

Disponiblesur:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4220293/>

151. Udler MS, Nadkarni GN, Belbin G, Lotay V, Wyatt C, Gottesman O, et al. Effect of Genetic African Ancestry on eGFR and Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* juill 2015 ; 26(7) :1682-92. Disponible sur <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2014050474>

152. Ma YC, Zuo L, Chen JH, Luo Q, Yu XQ, Li Y, et al. Modified Glomerular Filtration Rate Estimating Equation for Chinese Patients with Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* oct2006 ; 17(10) :2937-44.

Disponible sur : <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2006040368>

153. Matsuo S, Imai E, Horio M, Yasuda Y, Tomita K, Nitta K, et al. Revised Equations for Estimated GFR From Serum Creatinine in Japan. *Am J Kidney Dis.* 53(6) :982-92. Disponible sur:<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272638609003898>

154. Rule AD, Teo BW. GFR Estimation in Japan and China: What Accounts for the Difference? *Am J Kidney Dis.* juin 2009 ; 53(6) :932-5.

Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272638609004454>

155. Flamant M, Vidal-Petiot E, Metzger M, Haymann JP, Letavernier E, Delatour V, et al. Performance of GFR Estimating Equations in African Europeans: Basis for a Lower Race-Ethnicity Factor Than in African Americans. *Am J Kidney Dis.* juill 2013 ; 62(1) :182-4. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272638613006719>

LISTE DES ANNEXES :

Annexe (1) : document d'information en langue française et en langue arabe.

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière
Centre Hospitalier Universitaire de Sétif

Document d'information

Destiné aux personnes se prêtant à participer à l'étude portant sur l'évaluation des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) (fonctionnement des reins)

Titre de l'étude :

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) par rapport à une méthode de référence utilisant l'Iohexol comme marqueur dans la population algérienne.

Promoteur de l'étude :

Dr MAACHI Abdelkrim, maitre-assistant en néphrologie CHU de Sétif

Protocole :

L'insuffisance rénale chronique est diagnostiquée par deux types de techniques, les unes étudient la filtration d'une substance endogène qui est la créatinine dites méthodes d'estimation, les autres exogènes, étudient la filtration d'un marqueur exogène après son injection, comme l'Iohexol, dites méthodes de mesure. Les premières sont simple à mettre œuvre, nécessitent une seule prise de sang, les secondes nécessitent plusieurs prises de sang. Nous allons étudier la place des deux techniques dans le diagnostic de l'insuffisance rénale chronique.

Objectifs de l'étude :

L'étude vise deux objectifs principaux :

- Evaluer les performances des méthodes prédictives d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à la méthode de référence qu'est la mesure du débit de filtration glomérulaire par l'Iohexol dans la population algérienne générale.
- Introduire la méthode de mesure directe du débit de filtration glomérulaire en Algérie par la mesure du débit de filtration glomérulaire par la clairance plasmatique de l'Iohexol.

- Comparer les résultats de la créatinine sérique par deux méthodes de dosage : Jaffé cinétique et la méthode enzymatique et les conséquences de ces méthodes de dosage sur l'estimation du débit de filtration glomérulaire.
- Evaluer l'effet sur la fiabilité des méthodes d'estimation du DFG de certaines caractéristiques comme l'index de masse corporel (BMI), les facteurs ethniques utilisés pour les différentes populations (japonaise, chinoises, thaïlandaises, afro-américaines et afro-européennes) ainsi que le niveau de l'insuffisance rénale.

But de l'étude : Tester la fiabilité de ces méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire (fonctionnement des reins) dans la population algérienne pour ne pas être amené à classer des sujets en insuffisance rénale alors qu'ils ne le sont pas.

Vous êtes invité à participer à une étude pour déterminer la fiabilité des deux méthodes dans la population algérienne. Avant de décider de votre participation ou non, il est important que vous compreniez les buts de cette étude et de ce qu'elle impliquera.

La présente note est conçue pour vous expliquer ces différents aspects. Moi-même et toute l'équipe du service de néphrologie sommes disposés à vous expliquer tout point qui ne vous paraîtra pas clair.

La décision de participer ou non vous revient entièrement. Si vous décidez de participer, Il vous sera demandé de signer un formulaire de consentement. Vous en recevrez un exemplaire à conserver à votre domicile. Aucune méthode ne pourra être réalisée tant que vous n'avez pas lu et signé ce formulaire.

Déroulement de l'examen :

- Chaque participant doit faire l'objet d'une prise de sang à jeun, suivie d'une injection de 5ml d'iohexol produit éliminé uniquement par les reins (omnipaque^(R), 300mg/ml, GE Healthcare). Une série de 4 prélèvements sanguins sur tube avec anticoagulant sera ensuite réalisée à intervalles de temps prédéfinis par rapport à l'injection de l'iohexol : 120, 180, 240 et 300 mn.

Les concentrations de l'iohexol seront mesurées par une technique appelée chromatographie liquide à haute performance et le débit de fonctionnement glomérulaire sera ensuite calculé par le rapport entre la dose de l'iohexol injectée sur l'aire sous la courbe de dégression de l'iohexol dans le plasma.

Après le dosage les prélèvements seront automatiquement détruits.

- La prise de sang à jeun sert également à doser la créatinine par deux méthodes : méthode de Jaffé cinétique et méthode enzymatique

Les résultats de la créatinine serviront à estimer la filtration rénale par les méthodes d'estimation que sont la méthode dite MDRD, CKD-Epi et Cockcroft et Gault.

Durée de l'étude et le nombre de participants :

Le nombre de personne participant à étude est fixé à 100 sujets, cet échantillon comportera. Ce chiffre de 100 participants constitue un échantillon représentatif calculé par des formules statistique.

La durée de l'étude est ouverte ne dépassant pas deux ans et demi.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة الصحة والسكان واصلاح المستشفيات
المركز الاستشفائي الجامعي سطيف

وثيقة معلومات

موجهة للأشخاص المستعدين للمشاركة في دراسة بحثية تهدف لتقييم معادلات حساب الاسترشاح الكلوي (قياس وظيفية الكلى)

عنوان الدراسة:

تقييم كفاءة معادلات التنبؤ بمعدلات الاسترشاح الكلوي (وظيفة الكلى) لدى الجزائريين مقارنةً بالطريقة المرجعية لقياس الاسترشاح الكلوي باستخدام مادة "الإيوهكسول"

الباحث الرئيسي:

عبد الكريم معاشي: مدرس مساعد أمراض الكلى – مركز مستشفيات سطيف الجامعية

موضوع الدراسة:

يتم تشخيص مرض القصور الكلوي المزمن بطريقتين الأولى تعتمد على معدل استخلاص الكلى لأحد المواد التي ينتجها الجسم كالكرياتينين وتسمى الطريقة التنبؤية أما الطريقة الأخرى فتقيس معدل استخلاص الكلى لمادة خارجية بعد حقنها في الدم مثل مادة الإيوهكسول وتسمى طريقة القياس الفعلي. الطريقة الأولى هي طريقة بسيطة يمكن استخدامها بسهولة ولا تحتاج سوى عينة واحدة من دم المريض أما الطريقة الثانية فتحتاج إلى أخذ عينات متعددة من دم المريض. وفي هذه الدراسة سنقوم بمقارنة كفاءة الطريقتين في الكشف عن قصور الكلى المزمن.

أهداف الدراسة:

لهذه الدراسة هدفان رئيسيان:

أولهما:

تقييم دقة معادلات التنبؤ بمعدل استرشاح الكلوي مقارنةً بطريقة قياس معدل الاسترشاح الكلوي المرجعية باستخدام مادة الإيوهكسول لدى سكان الجزائر.

وثانيهما:

- إدخال طريقة القياس المباشر لمعدل الاسترشاح الكلوي في الجزائر بقياس معدل الترشيح الكبيبي عن طريق تصفية البلازما لـ لايوهكسول.

قارن نتائج كرياتينين المصل بطريقتين للمقايضة: طريقة Jaffé الحركية والطريقة الأنزيمية ونتائج طرق الفحص هذه على تقدير معدل الاسترشاح الكلوي.

- تقييم التأثير على موثوقية طرق تقدير الاسترشاح الكتوي لخصائص معينة مثل مؤشر كتلة الجسم (BMI) والعوامل العرقية المستخدمة لمختلف السكان (اليابانية، الصينية، والتيلاندية، والافرو-أمريكية، والافرو-أوروبية) وكذلك مستوى قش الكتوي.

وبذا يكون الهدف النهائي من هذه الدراسة اختبار دقة معادلات حساب الاسترشاح الكلوي إذا ما طبقت على الجزائريين كي نتجنب التشخيص الخاطئ بالقصور الكلوي لمن لا يعانون فعلياً من هذا المرض.

ونحن إذ ندعوكم للمشاركة في هذا البحث العلمي يتوجب علينا توضيح الجوانب المختلفة للدراسة وأهدافها وكذلك آثارها المتوقعة لمساعدتكم على اتخاذ قراركم بالمشاركة أو عدمها. وسأظل أنا شخصياً ومع كل فريق البحث مستعدون للإجابة عن كافة استفساراتكم اللاحقة فيما يخص هذا الأمر.

وفي حال قراركم النهائي بالمشاركة في هذا البحث سيطلب منكم التوقيع على اقرار بالموافقة تتسلمون نسخة منه للاحتفاظ بها طرفكم، ولن يتم اتخاذ أي إجراء بخصوص مشاركتكم في البحث قبل توقيعكم على اقرار المشاركة بعد قراءته.

متطلبات الفحص اللازم للدراسة:

يوم إجراء الفحص يجب أن يأتي المشارك في الدراسة صائماً حيث تؤخذ من دمائه عينة مبدئية ثم يتلقى بالحقن الوريدي مقدار 5 مليلتر من مادة الإيوهكسول التي تخرج من الجسم عن طريق الكلى فقط، واسمها التجاري "اومنيباك" تركيز 300 ميليغرام/مليلتر انتاج شركة "جي إي للرعاية الصحية".

سيتم ذلك أخذ أربع عينات من الدم توضع كل منها في أنبوب يحتوي على مضاد للتخثر على أن تكون الفواصل الزمنية بين تلقي حقنة الهكسول وأخذ العينات الأربعة هي 120 و 180 و 240 و 300 دقيقة تباعاً. هذه العينات الدموية ستسمح لنا بقياس تركيز مادة

الإيوهكسول في الدم بطريقة التحليل الكروماتوغرافي عالية الدقة، ليتم بعد ذلك قياس الوظيفة الاسترشاحية للكبيبات الكلوية عن طريق متابعة العلاقة بين كمية الإيوهكسول المعطاة بالحقن الوريدي ومعدل تضاؤل تركيزها في بلازما الدم بمرور الزمن. وبمجرد الانتهاء من الفحص سيتم التخلص نهائياً من عينات الدم المستخدمة
عينة الدم التي سيتم سحبها مبدئياً (بعد الحضور يوم الفحص صائماً) سيتم استخدامها لتحديد مستوى الكرياتينين في الدم بثلاثة اختبارات معملية مختلفة هي طريقة جافى التعويضية وطريقة جافى الكيمائية الحركية والطريقة المعتمدة على الانزيمات. ومن ثم سيتم استخدام نتائج قياس مستوى الكرياتينين في الدم لحساب معادلات التنبؤ بوظيفة الكلى الاسترشاحية وتحديد معادلات تكييف التغذية في أمراض الكلى "ام دي آر دي" ومعادلة وبائيات-مرض الكلى المزمن "سي كي دي-إي بي أي" ومعادلة كوكروفت-جولت.

مدة الدراسة وعدد الخاضعين لها:

سُجّرى هذه الدراسة على 228 شخصاً يُمثلون مجموعة من المتطوعين الأصحاء ومجموعة من المرضى المصابين بالقصور الكلوي المزمن. علماً بأن عدد الخاضعين للدراسة قد تم تحديده بـ 100 شخصاً حتى يصبح عينة مُثلية للمجتمع بناءً على الحسابات الاحصائية. وستستغرق الدراسة مدة زمنية لا تتجاوز العامين ونصف العام.

Annexe 2 : consentement éclairé en langue française et en langue arabe.

Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière

Centre Hospitalier Universitaire de Sétif

Document de recueil du consentement

Date :

Promoteur de l'étude : Dr MAACHI Abdelkrim maitre-assistant en néphrologie CHU de Sétif

Nom du participant :

Prénoms :

Date de naissance :

L'investigateur soussigné, confirme avoir personnellement expliqué les différents aspects de l'étude au participant dont le nom figure ci-dessus. Il confirme par la présente, avoir remis le document d'information sur l'étude et avoir répondu à toutes les interrogations en des termes que le participant comprend. Les aspects de l'étude abordés par l'investigateur sont comme suit :

- Information complète sur :

- Les objectifs de l'étude : -----
- Le déroulement de l'étude : -----
- Le temps suffisant à la réflexion : -----
- Possibilité permanente d'obtenir des informations complémentaire au cours de l'étude auprès de l'investigateur à tout moment : -----
- Participation volontaire sans aucune obligation : -----
- Possibilité d'interrompre la participation à l'étude à tout moment : -----
- Accord pour l'utilisation des résultats de l'étude dans des publications scientifiques : -----
- Accord de participation à l'étude : -----

Lu et approuvé

Fait à Le / /

Signature du Patient

Signature du praticien

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة الصحة والسكان واصلاح المستشفيات
المركز الاستشفائي الجامعي سطيف

اقرار بالموافقة على الخضوع لدراسة بحثية

تاريخ الاقرار: / /

عنوان الدراسة:

تقييم كفاءة معادلات التنبؤ بمعدلات الاسترشاح الكلوي (وظيفة الكلى) لدى الجزائريين مقارنةً بالطريقة المرجعية لقياس الاسترشاح الكلوي باستخدام مادة "الإيوهكسول"

الباحث الرئيسي:

عبد الكريم معاشي: مدرس مساعد أمراض الكلى – المركز الاستشفائي الجامعي سطيف

بيانات الموافقة على الخضوع للدراسة:

الاسم: اللقب: تاريخ الميلاد: / /

يؤكد الباحث الموقع أدناه أنه قابل مُباشرةً الشخص الموافق على الخضوع للدراسة المُوقَّع على هذا الاقرار وشرح له بوضوح الجوانب المختلفة لهذه الدراسة التي وافق على الخضوع لها. ويُعتبر التوقيع هذا الاقرار تأكيداً على أن المُقر بالموافقة على الخضوع لهذه الدراسة البحثية قد تلقى وثيقة المعلومات الخاصة بالدراسة وأن الباحث قد أجاب بوضوح على كل استفساراته المتعلقة بها وبطريقة تؤكد معها فهمه التام لجوانب الدراسة والمعلومات المتعلقة بها ومن بينها:

- أهداف الدراسة
- موضوع الدراسة وطريقة اجرائها
- الوقت الكافي للتفكير بشأن الخضوع للدراسة
- الامكانية الدائمة للحصول على معلومات اضافية بخصوص الدراسة من الباحث في أي وقت
- الموافقة على الخضوع للدراسة كمتطوع دون أي اجبار
- امكانية التوقف عن المشاركة في الخضوع للدراسة في أي وقت حتى نهايتها
- الموافقة على استخدام مُخرجات الدراسة ونشر نتائج الابحاث المتعلقة بها
- الموافقة على المشاركة في الخضوع للدراسة

تحرر في يوم تاريخ / /

وهذا اقرار بقراءة كل ما سبق والموافقة عليه

توقيع الباحث

توقيع المقر بالموافقة على الخضوع للدراسة

Annexe 3 :

Principales équations d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG) basées sur la créatinine sérique.

Références	Formule
Cockcroft et Gault [1]	$\frac{(140 - \hat{\text{âge}})}{(72 \times [\text{créatinine}])} \times \text{poids} \times (0,85 \text{ si femme})$
MDRD abrégée [2,3]	
Initiale	$186 \times [\text{créatinine}]^{-1,154} \times \hat{\text{âge}}^{-0,203} \times (0,742 \text{ si femme}) \times (1,21 \text{ si Afro-Américain})$
Corrigée pour créatinine standardisée IDMS	$175 \times [\text{créatinine}]^{-1,154} \times \hat{\text{âge}}^{-0,203} \times (0,742 \text{ si femme}) \times (1,21 \text{ si Afro-Américain})$
CKD-EPI (créatinine standardisée) [4]	$DFG = A \times \left(\frac{[\text{créatinine}]}{B} \right)^C \times 0,993^{\hat{\text{âge}}}$ <p>Si Noir-Africain, femme et $[\text{créatinine}] \leq 62 \mu\text{mol/l}$: A=166 ; B=0,7 ; C = -0,329 Si Noir-Africain, femme et $[\text{créatinine}] > 62 \mu\text{mol/l}$: A=166 ; B=0,7 ; C = -1,209 Si Noir-Africain, homme et $[\text{créatinine}] \leq 80 \mu\text{mol/l}$: A=163 ; B=0,9 ; C = -0,411 Si Noir-Africain, homme et $[\text{créatinine}] > 80 \mu\text{mol/l}$: A=163 ; B=0,9 ; C = -1,209 Si Caucasiens, femme et $[\text{créatinine}] \leq 62 \mu\text{mol/l}$: A=144 ; B=0,7 ; C = -0,329 Si Caucasiens, femme et $[\text{créatinine}] > 62 \mu\text{mol/l}$: A=144 ; B=0,7 ; C = -1,209 Si Caucasiens, homme et $[\text{créatinine}] \leq 80 \mu\text{mol/l}$: A=141 ; B=0,9 ; C = -0,411 Si Caucasiens, homme et $[\text{créatinine}] > 80 \mu\text{mol/l}$: A=141 ; B=0,9 ; C = -1,209</p>
Bjornsson et al. [5]	<p>Hommes : $(27 - [0,173 \times \hat{\text{âge}}]) \times \text{poids} \times \frac{0,7}{[\text{créatinine}]}$</p> <p>Femmes : $([25 - [0,175 \times \hat{\text{âge}}]]) \times \text{poids} \times \frac{0,7}{[\text{créatinine}]}$</p>
Davis et al. [6]	$\frac{(140 - \hat{\text{âge}})}{[\text{créatinine}]} \times (0,85 \text{ si femme})$
Edwards et White [7]	<p>Hommes : $\frac{94,3}{[\text{créatinine}]} - 1,8$</p> <p>Femmes : $\frac{69,9}{[\text{créatinine}]} - 2,2$</p>
Gates [8]	<p>Hommes : $89,4 \times [\text{créatinine}]^{-1,2} + (55 - \hat{\text{âge}}) \times 0,447 \times [\text{créatinine}]^{-1,1}$</p> <p>Femmes : $60 \times [\text{créatinine}]^{-1,1} + (56 - \hat{\text{âge}}) \times 0,3 \times [\text{créatinine}]^{-1,1}$</p>
Hull et al. [9]	$\frac{(145 - \hat{\text{âge}})}{[\text{créatinine}]} - 3 \times (0,85 \text{ si femme})$
Jelliffe [10]	$\frac{98 - 0,8 \times (\hat{\text{âge}} - 20)}{[\text{créatinine}]} \times (0,9 \text{ si femme})$
Mawer et al. [11]	<p>Hommes : $\frac{\text{poids} \times (29,3 - [0,203 \times \hat{\text{âge}}]) \times (1 - 0,03 \times [\text{créatinine}])}{14,4 \times [\text{créatinine}] \times \frac{70}{\text{poids}}}$</p> <p>Femmes : $\frac{\text{poids} \times (25,3 - [0,175 \times \hat{\text{âge}}]) \times (1 - 0,03 \times [\text{créatinine}])}{14,4 \times [\text{créatinine}] \times \frac{70}{\text{poids}}}$</p>

Evaluation des performances des méthodes d'estimation du débit de filtration glomérulaire par rapport à une méthode de référence utilisant l'iohexol comme marqueur dans la population algérienne

Nankivell et al. [12]

$$\frac{6,7}{[\text{créatinine}]} + \frac{\text{poids}}{4} - \frac{[\text{urée}]}{2} - \frac{100}{\text{taille}^2} + 35$$

$$\frac{6,7}{[\text{créatinine}]} + \frac{\text{poids}}{4} - \frac{[\text{urée}]}{2} - \frac{100}{\text{taille}^2} + 25$$

Walsler et al. [13]

Hommes : $7,57([\text{créatinine}] \times 0,0884)^{-1} - 0,103 \times \hat{\text{âge}} + 0,096 \times \text{poids} - 6,66$
 Femmes : $6,05([\text{créatinine}] \times 0,0884)^{-1} - 0,08 \times \hat{\text{âge}} + 0,08 \times \text{poids} - 4,81$

Mayo Clinic [14]

$$e^{\left(1,911 + \frac{5,249}{[\text{créatinine}]} - \frac{2,114}{[\text{créatinine}]^2} - 0,00686 \times \hat{\text{âge}} - 0,205 \text{ si femme}\right)}$$

Salazar et Corcoran [15]

Hommes : $\frac{(137 - \hat{\text{âge}}) \times [(0,285 \times \text{poids}) + (12,1 \times \text{taille}^2)]}{51 \times [\text{créatinine}]}$
 Femmes : $\frac{(146 - \hat{\text{âge}}) \times [(0,287 \times \text{poids}) + (9,74 \times \text{taille}^2)]}{60 \times [\text{créatinine}]}$

MDRD7 [2]

$$170 \times [\text{créatinine}]^{-0,999} \times \hat{\text{âge}}^{-0,176} \times [\text{BUN}]^{-0,170} \times [\text{albumine}]^{0,318} \times (0,762 \text{ si femme}) \times (1,18 \text{ si Afro-Américain})$$

BIS [16]

$$3736 \times [\text{créatinine}]^{-0,87} \times \hat{\text{âge}}^{-0,95} \times (0,82 \text{ si femme})$$

[créatinine] : concentration sérique de créatinine en milligrammes par décilitre ; MDRD : *modification of diet in renal disease* ; CKD-EPI : *chronic kidney disease epidemiology* ; IDMS : *isotope dilution mass spectrometry* ; BIS : *Berlin Initiative Study* ; BUN : *blood urea nitrogen* ; [albumine] : concentration sérique d'albumine.

Annexe 4 : Classification et pronostic de la maladie rénale chronique selon KDIGO 2012.

Prognosis of CKD by GFR and albuminuria category

Prognosis of CKD by GFR and Albuminuria Categories: KDIGO 2012				Persistent albuminuria categories Description and range		
				A1	A2	A3
				Normal to mildly increased <30 mg/g <3 mg/mmol	Moderately increased 30-300 mg/g 3-30 mg/mmol	Severely increased >300 mg/g >30 mg/mmol
GFR categories (ml/min/ 1.73 m ²) Description and range	G1	Normal or high	≥90			
	G2	Mildly decreased	60-89			
	G3a	Mildly to moderately decreased	45-59			
	G3b	Moderately to severely decreased	30-44			
	G4	Severely decreased	15-29			
	G5	Kidney failure	<15			

Green: low risk (if no other markers of kidney disease, no CKD); Yellow: moderately increased risk; Orange: high risk; Red, very high risk.