

VARIABILITÉ DE LA MESURE DE LA CRÉATININÉMIE DU CHIEN DANS LES CLINIQUES VÉTÉRINAIRES

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Élodie CABÉ

Née, le 14 septembre 1981 à PARIS (Île de France)

Directeur de thèse : **Monsieur le Professeur Jean-Pierre BRAUN**

JURY

PRESIDENT :
M. Francis LE GAILLARD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Jean-Pierre BRAUN
Mme Catherine TRUMEL

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

A NOTRE PRESIDENT DE THESE,

Monsieur le Professeur Francis LE GAILLARD

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Biochimie et Biologie moléculaire

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE,

Monsieur le Professeur Jean-Pierre BRAUN

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physique et Chimie biologiques et médicales

Qui nous a confié ce travail et qui nous a encadré avec une grande disponibilité et beaucoup de patience.

En témoignage de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance.

Madame le Professeur Catherine TRUMEL

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie médicale des Equidés et Carnivores

Qui a aimablement accepté de participer à ce jury de thèse.

Très sincères remerciements.

Au laboratoire Idexx et plus spécialement à Mr Govart pour leur soutien dans l'élaboration de ce travail.
Merci pour votre confiance et votre aide précieuse.

A tous les vétérinaires praticiens ayant accepté de participer à l'étude. Merci pour le temps que vous nous avez consacré et pour l'accueil chaleureux que vous nous avez accordé.

A cyril, je t'aime de tout mon cœur.

A ma famille, à mes parents, pour leur amour et leur soutien sans faille.

A mes amis, pour tous nos bons moments passés et à venir.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	12
TABLE DES ANNEXES	7
INTRODUCTION	16
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	18
I) Variabilité analytique en biologie médicale.....	18
A. Caractéristiques métrologiques des techniques analytiques.....	18
1. La précision.....	18
2. L'exactitude	19
a) <i>Concept d'erreur systématique.....</i>	<i>19</i>
b) <i>Concept d'erreur totale.....</i>	<i>20</i>
3. La spécificité analytique	21
4. La robustesse.....	21
B. Principes généraux du contrôle de qualité.....	21
1. Définir le niveau de qualité à atteindre	22
2. Un outil simple : le graphique de contrôle qualité	22
II) Variabilité analytique de la mesure de la créatinine.....	24
A. Des méthodes de dosage aux caractéristiques métrologiques variables	24
1. Méthodes colorimétriques	24
a) <i>La méthode de Jaffé.....</i>	<i>24</i>
b) <i>Autres méthodes colorimétriques</i>	<i>25</i>
2. Méthodes enzymatiques	26
a) <i>Méthodes utilisant la créatininase.....</i>	<i>26</i>
b) <i>Méthodes employant la créatininase et la créatinase.....</i>	<i>26</i>
c) <i>Méthodes utilisant la créatinine déaminase</i>	<i>28</i>
3. Méthodes en « chimie sèche »	28
4. La Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).....	29
B. Caractéristiques des analyseurs de biochimie des cliniques vétérinaires.....	30
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES.....	34

I)	Schéma expérimental général	34
II)	Elaboration du questionnaire.....	34
III)	Spécimens de contrôle	35
IV)	Collecte des données.....	36
V)	Traitement des données	36
 TROISIEME PARTIE : RESULTATS.....		38
I)	Résultats du questionnaire	38
A.	Caractéristiques des cliniques vétérinaires rencontrées	38
1.	Taille des cliniques vétérinaires	38
2.	Secteur d'activité des cliniques vétérinaires	38
B.	Informations recueillies sur les analyseurs testés.....	39
1.	Analyseurs rencontrés	39
2.	Ancienneté de l'appareil et aspect extérieur.....	39
3.	Contrôle qualité.....	40
4.	Nettoyage/maintenance.....	40
C.	Modalités d'utilisation des réactifs	41
D.	Technique de dosage de l'opérateur.....	41
1.	Personne réalisant les mesures	41
2.	Manipulation des spécimens	42
3.	Paramètres pris en compte pour interpréter la créatininémie	42
II)	Résultat des mesures de la créatininémie.....	43
A.	Stabilité des spécimens de contrôle sur l'analyseur Vitros	43
B.	Résultats des dosages	43
1.	Résultats bruts.....	43
2.	Résultats en fonction des équipements.....	45
3.	Résultats en fonction de la personne réalisant les mesures	48
4.	Résultats selon les modalités de réalisation du contrôle de qualité.....	49
5.	Résultats selon les modalités de réalisation de l'entretien	50
6.	Résultats selon la technique de dosage	51
 QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION		53
I)	Méthodologie.....	53
A.	Choix des cliniques vétérinaires.....	53

B.	Collecte des données du questionnaire.....	53
1.	Nombre de cas trop faible pour certains modèles d'analyseurs	53
2.	Problème d'évaluation de la « mise à température ambiante » des réactifs	53
II)	Fonctionnement du laboratoire des cliniques vétérinaires.....	54
A.	Technique de mesure de l'opérateur	54
1.	Mauvaise conservation des réactifs.....	54
2.	Utilisation de réactifs périmés.....	54
3.	Réactifs non ramenés à température ambiante	54
4.	Manipulation approximative de la pipette.....	54
B.	Paramètres pris en compte pour interpréter la créatininémie	55
1.	Caractéristiques du sérum	55
2.	Intervalles de référence parfois inadaptés	55
C.	Pas de spécialisation du poste	55
D.	Des contrôles de qualités négligés	56
E.	Méconnaissance de la réalisation pratique du nettoyage	56
III)	Résultats des mesures.....	56
A.	Exactitude et distribution des mesures de la créatininémie.....	56
B.	Valeurs non transférables d'un appareil à l'autre.....	57
C.	Des procédures de dosage à améliorer	58
IV)	Proposition pour la réalisation pratique du contrôle qualité.....	58
A.	Choix du spécimen de contrôle	58
B.	Déterminer une gamme de valeurs acceptables	59
C.	Se fixer des règles de contrôle.....	60
	CONCLUSION	61
	BIBLIOGRAPHIE	63
	ANNEXE	71

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : A) Représentation graphique d’erreurs systématiques constantes ou proportionnelles. $y = x$ représente le cas idéal où aucune erreur n’est présente. B) Représentation graphique d’erreurs aléatoires ^[32]	20
Figure 2 : Concept d'erreur totale ^{[32] [63]}	21
Figure 3 : graphique de contrôle qualité ^[64]	23
Figure 4 : Réaction de Jaffé : réaction de la créatinine avec l’acide picrique en milieu alcalin ^[34]	24
Figure 5 : Réactions enzymatiques utilisant la créatininase et la créatinase pour doser la créatinine ^[48]	27
Figure 6 : Pourcentage de vétérinaires participant ou non à l’étude parmi les vétérinaires contactés.....	36
Figure 7 : Répartition des cliniques vétérinaires selon le nombre de vétérinaires (□) et d’ASV (■) y travaillant.....	38
Figure 8 : Répartition des cliniques vétérinaires contactées en fonction de leur secteur d’activité :	39
Figure 9 : Répartition des cliniques selon l’analyseur utilisé : Vetest (□), Réflotron (□), VetScan (■), Ektachem (□), Spotchem (■) et analyseur en « chimie humide » (■)......	39
Figure 10 : Répartition des analyseurs Vetest (□) et Réflotron (■) qui ont fait l’objet d’un contrôle qualité par la clinique selon A) le nombre de contrôles de qualité effectués chaque année B) le temps (en mois) écoulé depuis le dernier contrôle de qualité au moment de la visite de la clinique.	40
Figure 11 : Répartition des analyseurs Vetest (□) et Réflotron (■) qui ont fait l’objet d’un entretien par la clinique selon A) le nombre de maintenances réalisées chaque année B) le temps (en mois) écoulé depuis la dernière maintenance au moment de la visite de la clinique.	41
Figure 12 : Personnes réalisant les mesures de biochimie dans les cliniques vétérinaires : le même vétérinaire (■), tous les vétérinaires (□), le(la) même ASV (■), tous les ASV (■), tout le monde (□).	42
Figure 13 : Evolution de la concentration en créatinine des spécimens de contrôle N°1 (—◆—) et N°2 (—■—) au cours du temps mesurée sur le Vitros [®] 250.	43
Figure 14 : Histogramme des écarts entre les mesures des concentrations en créatinine (µmol/L) des spécimens N°1 (□) et N°2 (■) et les cibles correspondantes, tous appareils confondus.....	44
Figure 15 : Représentation de l’écart à la cible des concentrations en créatinine du spécimen de contrôle N°2 en fonction de l’écart à la cible des concentrations en créatinine du Spécimen N°1 pour chaque site, tous analyseurs confondus.	45

Figure 16 : Distribution des mesures de la créatinine des spécimens N°1(A) et 2(B) selon les analyseurs VetScan (▲), Vetest (×), Réflotron (◆), Ektachem (+), Spotchem (■) et les analyseurs en chimie humide (○).....	46
Figure 17 : Distribution des écarts entre les mesures de la créatinine des spécimens N°1(A) et 2(B) et les cibles correspondantes selon les analyseurs VetScan (▲), Vetest (×), Réflotron (◆), Ektachem (+), Spotchem (■) et les analyseurs en chimie humide (○).....	46
Figure 18 : Ecart à la cible de la concentration en créatinine du spécimen de contrôle N°2 en fonction de l'écart à la cible de la concentration en créatinine du Spécimen N°1 pour chaque site, et par type d'appareil.....	48
Figure 19 : Distribution de l'écart des mesures de la créatinine des deux spécimens de contrôle aux cibles correspondantes en fonction de l'opérateur: le même vétérinaire (△), le(la) même ASV (×), tous les vétérinaires (◇), tous les ASV (+), tout le monde (○).....	48
Figure 20 : Distribution de l'écart des mesures de la créatinine des deux spécimens aux cibles correspondantes selon qu'un contrôle de qualité a été réalisé (×) ou non (△).....	49
Figure 21 : Parmi les cliniques vétérinaires réalisant un contrôle de qualité, distribution des écarts à la cible des mesures de créatininémie selon le nombre de contrôles de qualité réalisés chaque année.....	49
Figure 22 : Distribution de l'écart des mesures de la créatinine des deux spécimens aux cibles correspondantes selon que l'entretien a été réalisé (×) ou non (△).....	50
Figure 23 : Parmi les cliniques vétérinaires réalisant un entretien de leur analyseur, distribution des écarts des mesures de créatininémie des deux spécimens de contrôle aux cibles correspondantes selon le nombre de nettoyages réalisés chaque année.....	50
Figure 24 : Distribution de l'écart des mesures de la créatinine des deux spécimens de contrôle aux cibles correspondantes selon que les réactifs : A) ont été conservés selon les indications du fabricant (×) ou non (△) ; B) ont été ramenés à température ambiante (×) ou non (△) avant l'analyse.....	51
Figure 25 : Règles multiples de contrôle de Westgard ^[63]	60
Tableau I : Statistiques descriptives des écarts entre les valeurs des concentrations en créatinine (μmol/L) des contrôles dans les cliniques vétérinaires et les cibles des spécimens de contrôle, tous appareils confondus. Les deux colonnes de droite correspondent aux résultats obtenus en ayant éliminé les résultats considérés comme aberrants obtenus sur deux sites.....	44

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Fiche de renseignements remplie par chaque clinique vétérinaire participant à l'étude..... 74

INTRODUCTION

La créatinine plasmatique est l'analyte le plus couramment mesuré dans les cliniques vétérinaires. De nombreuses approches cliniques ou thérapeutiques reposent sur sa mesure, assimilant son augmentation à une baisse de la fonction rénale. L'IRIS (International Renal Interest Society) a récemment proposé de grader les stades de l'insuffisance chronique du chien en fonction de la créatininémie ^[14]. Chez l'homme, elle permet d'estimer à l'aide d'équations le débit de filtration glomérulaire, considéré comme un index de la masse fonctionnelle rénale ^{[10] [38] [41] [44] [56]}.

Mais avant d'exploiter le résultat d'une mesure de la créatinine plasmatique, il faut savoir si nous pouvons avoir confiance en ce résultat. Or, les techniques de dosage de la créatinine sont encore très hétérogènes comme cela a été montré aussi bien chez l'homme ^{[24] [34] [38] [52]} que chez le chien ^{[31] [42]}. Les résultats des mesures ne sont donc apparemment pas transposables, rendant difficile toute exploitation des outils diagnostiques fondés sur la créatininémie proposés dans la littérature.

On peut alors s'interroger sur ce qu'obtiennent les vétérinaires praticiens qui utilisent des analyseurs différents dans des conditions parfois peu contrôlées. Il n'y a actuellement aucune étude portant sur la fiabilité des analyses de biochimie effectuées par des vétérinaires ou leurs collaborateurs dans les cliniques vétérinaires. Il apparaît donc intéressant d'étudier la variabilité des résultats obtenus dans la pratique vétérinaire courante en se fondant sur la mesure de la créatinine plasmatique, puisque c'est l'analyse la plus fréquente.

Cette étude est fondée sur une synthèse bibliographique de la variabilité analytique en biologie médicale puis plus précisément lors du dosage de la créatinine. Elle présente ensuite le protocole et les résultats d'une enquête de contrôle de qualité du dosage de la créatinine plasmatique à deux concentrations différentes dans des cliniques vétérinaires. Cela débouche sur une proposition de contrôle de qualité simplifié permettant d'améliorer la transférabilité des résultats.

Première partie : Etude bibliographique

Variabilité analytique en biologie médicale

Il est primordial de pouvoir affirmer que la concentration en analyte mesurée par l'appareil de biochimie de la clinique est juste si l'on veut répondre à l'obligation de résultat découlant de l'article 1147 du Code Civil. En effet, dans le cas contraire, une décision médicale inappropriée peut être fondée sur un résultat inexact. Pour comprendre les enjeux de la procédure, nous envisagerons dans un premier temps les caractéristiques métrologiques des techniques analytiques, puis nous aborderons les principes généraux du contrôle de qualité.

A. Caractéristiques métrologiques des techniques analytiques

Seules seront rappelées ci-après les principales caractéristiques métrologiques. Le sujet très important a fait l'objet de nombreuses mises au point [2] [3] [8] [12] [29] [32] [49] [55].

La précision

La précision ou fidélité d'une technique de mesure est l'aptitude de cette technique à donner le même résultat lors de la répétition d'analyses du même spécimen [32]. Elle évalue en pratique les erreurs analytiques aléatoires [65].

La précision est habituellement estimée en analysant le même spécimen une vingtaine de fois au minimum et en calculant la moyenne et l'écart type (SD) des résultats. Plus l'écart type est grand, plus la distribution est large, et plus la précision est faible. Une méthode avec une bonne précision possède donc un écart-type faible habituellement quantifié par le coefficient de variation : $CV = SD/m \times 100$ [49] [65].

Différentes composantes de la précision peuvent être étudiées, selon la façon dont le dosage est réalisé :

La répétabilité (précision intra-série) est la précision d'analyses effectuées à la suite les unes des autres avec le même mode opératoire, le même observateur, le même instrument de mesure, et le même lieu [2].

La reproductibilité (précision inter-séries) correspond à la précision d'analyses effectuées en faisant varier les conditions de mesure, par exemple à plusieurs heures ou jours d'intervalle, éventuellement avec un matériel différent [2].

La répétabilité sous-estime généralement la précision car les conditions de dosage ne changent pas durant le test [32] [49]. La reproductibilité est plus réaliste et correspond mieux aux performances observés par les

cliniciens car ce test inclut les variations produites par le changement d'opérateur, de lot de réactifs, de pipette, de température^{[3] [32] [49]} ...

En pratique, le terme d'imprécision est fréquemment utilisé pour quantifier les variations survenant lors de la répétition de mesures^[32].

L'exactitude

L'exactitude d'une technique analytique est l'aptitude de cette technique à indiquer la valeur vraie, c'est-à-dire la quantité effectivement présente dans le spécimen^[2]. En pratique, la valeur vraie d'un analyte est obtenue en utilisant différentes techniques de référence. L'inexactitude d'une technique peut alors être étudiée en utilisant les concepts d'erreurs systématiques ou totales. On évalue ainsi la qualité de l'agrément entre la valeur vraie de l'analyte et sa valeur mesurée^{[12] [32]}.

Concept d'erreur systématique

Une erreur systématique est l'écart entre la moyenne des valeurs mesurées pour un spécimen donné et la valeur vraie dans ce même spécimen. Cet aspect de l'exactitude est généralement estimé en comparant plusieurs techniques. Une série de spécimens de concentrations couvrant les valeurs observées aussi bien chez les sujets sains que malades est alors dosée avec la technique que l'on souhaite évaluer ainsi qu'avec une technique dont l'exactitude a été établie et validée. Les termes d'inexactitude et de biais sont souvent utilisés pour mettre l'accent sur le manque d'agrément entre les techniques comparées^[12]. Une erreur systématique est détectée comme un biais constamment positif ou négatif pour une technique analytique donnée, contrairement à une erreur aléatoire, qui peut être positive et négative de manière imprévisible^[32].

Les erreurs systématiques peuvent être subdivisées en deux types : constante ou proportionnelle. Une erreur systématique constante est de la même ampleur, même si la concentration en analyte change. En revanche, l'ampleur de l'erreur systématique proportionnelle correspond à un pourcentage de la concentration en analyte. Une erreur systématique constante peut par exemple apparaître lorsqu'une substance interférente est présente dans le spécimen^{[29] [32]}.

La matrice des solutions de contrôle crée couramment des biais lors de dosages. En effet, la composition du spécimen de contrôle peut être altérée lors du processus de fabrication, et ainsi présenter des différences artificielles non présentes dans les spécimens frais^{[37] [38] [45] [48]}.

Les erreurs systématiques constantes et proportionnelles peuvent être détectées et clairement démontrées en se fondant sur des graphiques représentant les résultats de la technique testée en ordonnée et les résultats de la

technique de référence en abscisse (figure 1). Des calculs mathématiques permettent d'estimer la qualité de l'agrément entre les résultats des deux techniques, par exemples les régressions de Deming et de Passing-Bablok ^{[29] [43]}. (freeware disponible sur www.westgard.com/javamvtools.html)

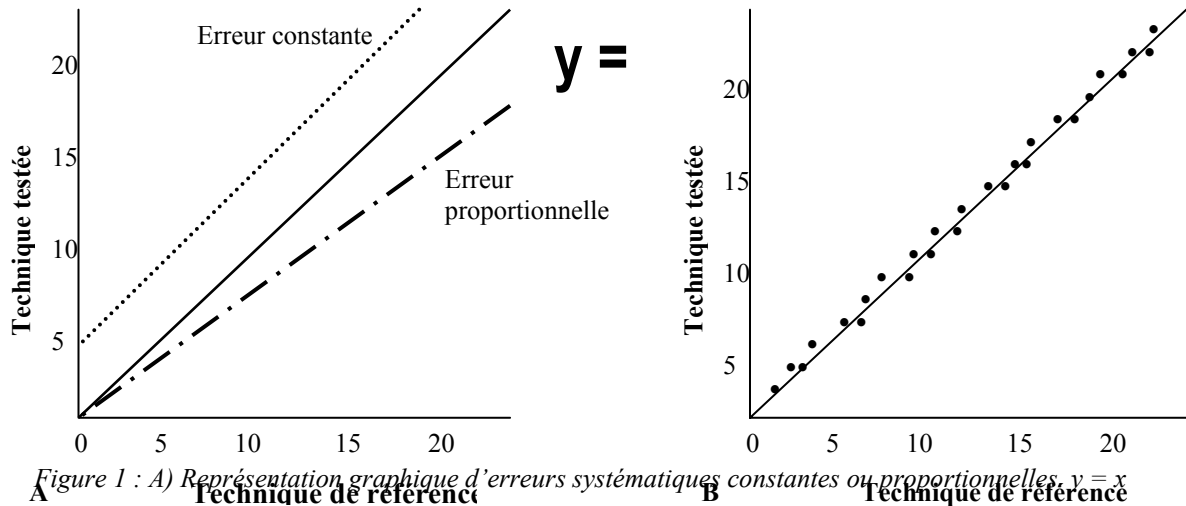


Figure 1 : A) Représentation graphique d'erreurs systématiques constantes ou proportionnelles. $y = x$ représente le cas idéal où aucune erreur n'est présente. B) Représentation graphique d'erreurs aléatoires ^[32].

Une autre approche graphique, la représentation de Altman et Bland, est utile pour étudier les erreurs systématiques. Elle consiste à représenter la différence des résultats obtenus pour les deux techniques en fonction des résultats de la technique de référence ou de la moyenne des deux techniques. Ce type de tracé permet de visualiser si le biais est constant ou proportionnel sur toute la gamme des valeurs mesurées ^{[29] [32]}.

Concept d'erreur totale

L'information sur les différentes composantes de l'erreur est intéressante lorsque l'on vise à identifier les sources d'erreurs et réduire leur amplitude. D'un autre côté, c'est l'effet global des différentes composantes de l'erreur qui doit être considéré pour juger une nouvelle méthode.

Le concept d'erreur totale et son lien avec les composantes aléatoires et systématiques sont illustrés figure 2. La distribution des valeurs autour de la valeur centrale représente l'erreur aléatoire ou imprécision alors que la distance entre la valeur centrale et la valeur vraie représente l'erreur systématique. L'erreur totale démontre combien l'erreur peut être importante lorsque l'erreur aléatoire et l'erreur systématique s'additionnent ^[32].

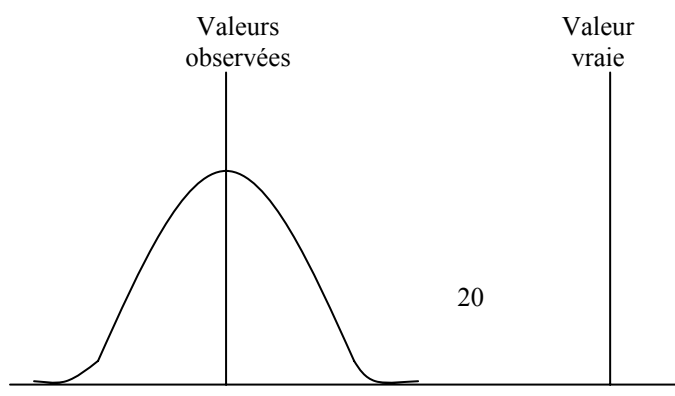


Figure 2 : Concept d'erreur totale ^{[32] [63]}.

En pratique, lorsqu'une technique est inexacte mais précise, la comparaison de résultats obtenus avec la même technique ne pose pas de problème. C'est ce qui est réalisé en pratique courante dans les cliniques vétérinaires où les éventuelles erreurs d'un système analytique se reproduisent d'un spécimen au suivant, excepté lors d'un dysfonctionnement de ce système. En revanche, la comparaison des résultats avec ceux de l'extérieur est problématique, qu'il s'agisse de résultats d'autres laboratoires, de ceux de confrères ou de résultats issus de la littérature.

La spécificité analytique

La spécificité est l'aptitude d'une technique à réagir avec le seul analyte d'intérêt du dosage ^[12]. La spécificité analytique peut ainsi être affectée par des substances communément rencontrées dans le sérum ou le plasma comme la bilirubine, l'hémoglobine, les lipides ou par certaines molécules chimiques comme les médicaments, les toxiques. Ces composants peuvent influencer sur les techniques de dosage en modifiant la couleur, la turbidité, ou tout autre propriété chimique ou physique des spécimens ^{[32] [37] [38] [39] [46] [49]}.

La robustesse

La robustesse d'une procédure est l'aptitude d'une méthode à présenter des performances constantes lorsqu'elle est utilisée à la limite des conditions d'utilisation, par des opérateurs et des lots de réactifs différents sur une longue période ^[32].

C'est une qualité importante à rechercher pour les appareils utilisés dans les cliniques vétérinaires.

B. Principes généraux du contrôle de qualité

Le but d'un contrôle statistique de qualité est de suivre la qualité analytique des mesures et de détecter des modifications de la qualité. Du point de vue de l'opérateur, le but du contrôle qualité est simplement de l'avertir lorsque la technique a un problème. Le vétérinaire praticien souhaite être alerté lorsqu'il y a un réel problème mais estime qu'il ne peut se permettre de perdre du temps lorsque la technique de mesure fonctionne correctement. Cependant ce n'est qu'en s'assurant de la qualité de l'analyse effectuée qu'il pourra utiliser le résultat avec confiance ^{[11] [68]}.

Définir le niveau de qualité à atteindre

Pour réaliser un contrôle qualité de manière objective, il est tout d'abord nécessaire de définir le niveau de qualité que l'on souhaite atteindre. Il faut ainsi établir le coefficient de variation et le biais maximum tolérés, et choisir la fréquence des contrôles nécessaires pour suivre les performances du système analytique [62].

De nombreux groupes d'étude étudient des critères de qualité différents, analytiques ou cliniques, et évaluent les performances des techniques en biologie humaine. Leurs conclusions ne peuvent que servir de guide en biologie vétérinaire. Par exemple, pour le dosage de la créatinine, d'après le CLIA (Clinical Laboratory Improvements Amendments) une erreur totale de 15 % est la limite maximale acceptable [55].

Il revient cependant à chaque clinicien de choisir les critères de qualité qu'il souhaite appliquer en s'appuyant sur les travaux réalisés en biologie humaine et sur les besoins d'interprétation médicale. Par exemple, la précision de la technique utilisée doit être bien supérieure si l'on veut interpréter des différences de 20 $\mu\text{mol/L}$ ou de 50 $\mu\text{mol/L}$ entre deux analyses consécutives [28].

Un outil simple : le graphique de contrôle qualité

Dans les laboratoires, des graphiques de contrôle sont utilisés pour simplifier les comparaisons entre les valeurs mesurées au cours du temps. Il s'agit d'un procédé simple qui peut ensuite être amélioré selon les besoins. Ex : diagrammes de Shewhart (Levey-Jennings) [29] [49] [58].

Il faut tout d'abord calculer la moyenne et l'écart type (SD) de la valeur de contrôle pour fixer les limites. Ainsi, 95 % des valeurs sont supposées se trouver entre ± 2 SD et 99,7 % entre ± 3 SD. Puis, les résultats des dosages sont placés sur le graphique en fonction du temps. Ce système permet d'identifier rapidement les mesures imprévues.

Vu que 99,7 % des valeurs sont comprises entre $m + 3$ SD et $m - 3$ SD, il est très peu probable (0,3 % de chance) d'observer une valeur de contrôle extérieure à cet intervalle. Une telle observation indique habituellement un problème avec la méthode de dosage. En revanche, même s'il est plutôt inattendu d'avoir une valeur non comprise entre $m + 2$ SD et $m - 2$ SD, il y a tout de même 5% de chance pour que cela arrive. Cela peut donc indiquer un problème réel ou bien être une fausse alarme. Enfin, il est plutôt commun d'observer des valeurs non comprises entre $m + 1$ SD et $m - 1$ SD (32% de chance) ; c'est pourquoi cette limite de contrôle n'a pas de valeur pour juger la performance de la méthode à partir d'une seule mesure de contrôle [64].

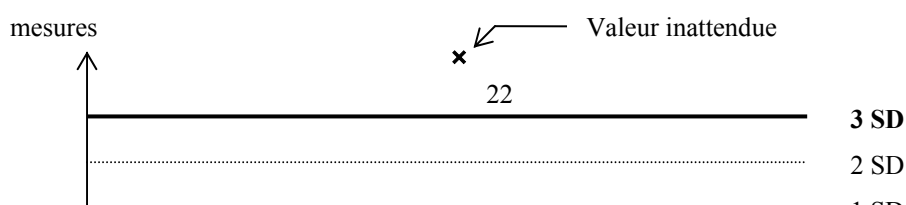




Figure 3 : graphique de contrôle qualité^[64].

Variabilité analytique de la mesure de la créatinine

A. Des méthodes de dosage aux caractéristiques métrologiques variables

La créatinine peut être dosée par des méthodes colorimétriques, enzymatiques ou chromatographiques. Ces méthodes de dosage ne possèdent pas les mêmes caractéristiques métrologiques. C'est pourquoi il est important de les connaître avant d'interpréter le résultat d'un dosage. Les revues et documents de synthèse sur le sujet sont nombreux [9] [13] [18] [19] [26] [31] [34] [40] [44] [48] [57].

1. Méthodes colorimétriques

La méthode de Jaffé

La plupart des techniques colorimétriques de dosage de la créatinine est fondée sur la réaction de Jaffé, décrite la première fois par Jaffé en 1886. Il s'agit de mesurer, à une longueur d'onde voisine de 500 nm, l'intensité de la coloration rouge-orangée du complexe que forment la créatinine et l'acide picrique en milieu alcalin [18] [23] [40] [41] [44] [48] [57]. Les modalités d'application sont nombreuses et ont permis le développement de multiples techniques de dosage.

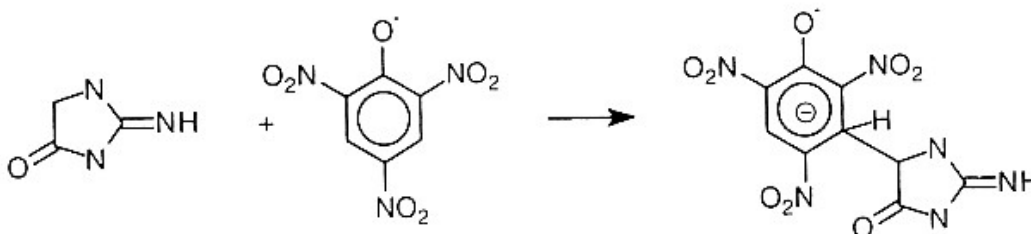


Figure 4 : Réaction de Jaffé : réaction de la créatinine avec l'acide picrique en milieu alcalin [34].

Malgré une littérature considérable sur le sujet, tout n'est pas encore clair au sujet du mécanisme final de la réaction et de la structure du produit [41]. Des études sur la cinétique de la réaction de Jaffé montrent qu'il s'agit certainement d'un processus en deux étapes, impliquant la production d'un ion picrate activé lors de la première étape [40] [48] [53]. Butler a également présenté de fortes présomptions indiquant que le chromogène de la réaction de Jaffé est un complexe de Janovsky formé par l'attaque en position méta de l'ion picrate par le groupe méthyle de la créatinine [40] [48].

Les techniques utilisant la réaction de Jaffé présentent l'avantage d'être simples à mettre en œuvre et d'être bien connues des biologistes après plus de 90 ans d'utilisation. Le principal inconvénient provient du fait

que chez un sujet sain, jusqu'à 15-25% de la réaction colorée est produite par des substances autres que la créatinine [39] [44]. La réaction est sensible à de nombreuses interférences produites par des molécules présentes dans les spécimens biologiques à analyser. Le glucose, l'ascorbate, l'acide urique, la bilirubine, les protéines, les corps cétoniques, le pyruvate, les céphalosporines, les agents réducteurs en général sont ainsi susceptibles de faire varier le résultat. De plus, toute molécule possédant un groupe méthyl peut potentiellement réagir avec l'acide picrique [4] [9] [18] [27] [34] [40] [41] [44] [48] [57]. Les interférences par le glucose et les corps cétoniques sont particulièrement importantes en biologie humaine car les sujets diabétiques présentent un risque plus élevé de développer une insuffisance rénale chronique [39].

L'interférence de ces chromogènes variant selon les individus, il est impossible d'appliquer un facteur de correction pour convertir les mesures de la créatinine par la méthode de Jaffé en concentration réelle en créatinine [9].

Le degré d'interférence dépend également en grande partie de la technique. La plupart des études ont ainsi visé à éliminer ces interférences afin d'améliorer la spécificité analytique de la technique [48]. Différents auteurs ont alors développé des techniques par adsorption, par oxydation, par extraction des interférents par un solvant, par ajustement du pH pour décolorer le complexe de Jaffé, ou par dialyse en flux continu. Ces techniques, aujourd'hui obsolètes, ne sont plus utilisées [18] [30] [34] [41] [44] [48].

L'étude de la cinétique de la réaction de Jaffé a montré l'existence de deux cinétiques de réaction des interférents. Les premiers se forment très rapidement dans les premières 20s après le mélange des réactifs et de l'échantillon, alors que les seconds ne se forment qu'après 80 à 100s. C'est pourquoi l'intervalle entre 20 et 80s est une période pendant laquelle la variation d'absorbance observée peut être majoritairement attribuée à la réaction entre l'acide picrique et la créatinine [41]. Cela réduit mais ne supprime pas tous les effets des interférents. Ainsi, des concentrations élevées en bilirubine continuent-elles de réduire de façon significative la créatininémie mesurée [44].

Les concentrations en créatinine mesurées par les techniques de Jaffé "cinétiques" sont en moyenne 20% plus basses que lorsque la réaction de Jaffé classique est utilisée. L'intervalle de référence de la créatinine plasmatique est alors plus faible. Cela constitue une des difficultés pour la comparaison des résultats et de nombreux essais d'amélioration de la spécificité fondés sur la concentration en réactifs, la température et la longueur d'onde ont été effectués (par exemple [5] [6] [40] [41] [44]).

Autres méthodes colorimétriques

D'autres techniques de dosage de la créatinine se sont développées sur un principe voisin avec :

- l'acide 1,4-naphtoquinone-2-sulfonique : cette technique est imprécise et donne des valeurs faussement élevées^{[40] [48]}.
- le *o*-nitrobenzaldehyde : la créatine est probablement dosée en même temps^{[40] [48]}.
- l'acide 3,5-dinitrobenzoïque : La créatinine réagit avec l'acide 3,5-dinitrobenzoïque ou l'un de ses dérivés à un pH alcalin et donne une réaction colorée rouge pourpre^[41]. Cette méthode ne présente aucun réel avantage par rapport aux réactions utilisant l'acide picrique mais elle est utilisée dans des procédures en phase solide, par exemple par l'analyseur Spotchem[®]^{[51] [70]}.

2. Méthodes enzymatiques

Les techniques enzymatiques semblent donner des valeurs plus basses d'environ 20 μ mol/L par rapport à la méthode de Jaffé. Elles n'ont pas été validées pour le plasma du chien, mais des études sur échantillons humains rapportent une exactitude de ces méthodes supérieure à celle des techniques de Jaffé^[9].

Les méthodes enzymatiques permettant de doser la créatinine sont classées en trois groupes, selon l'enzyme ou la combinaison d'enzymes utilisée.

Méthodes utilisant la créatininase

De nombreux auteurs ont isolé et étudié des enzymes issues de bactéries aérobies dégradant la créatinine. La première enzyme, la créatininase, également appelée créatinine amidohydrolase E.C. 3.5.2.10. catalyse l'hydrolyse de la créatinine en créatine^{[44] [48]}.

Plusieurs techniques utilisant cette enzyme ont été développées. Elles utilisent la créatininase pour transformer la créatinine en créatine puis une cascade de réaction conduit à l'oxydation du NADH^{[48] [57]}.

A cause de la complexité de ces réactions couplées, la précision de ces dosages est moindre que celle de la réaction de Jaffé. De plus, ces techniques sont chères et peu utilisables en routine à cause de la grande quantité de réactifs nécessaire^[48].

Méthodes employant la créatininase et la créatinase

La deuxième enzyme, la créatinase, également appelée créatinine amidinohydrolase E.C. 3.5.3.3. catalyse l'hydrolyse de la créatine en sarcosine et en urée [44] [48].

Le développement de techniques utilisant la créatininase et la créatinase s'est d'abord heurté au fait que la sarcosine était difficile à mesurer et que l'urée présentait de grandes variations patho-physiologiques [48].

Puis, avec la découverte d'une source bactérienne de sarcosine oxydase (E.C. 1.5.3.1) catalysant la conversion de la sarcosine en glycine, formaldéhyde et en peroxyde d'hydrogène, l'estimation de la sarcosine est devenue plus facile [48].

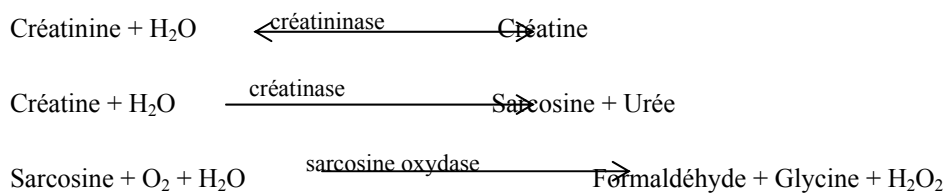


Figure 5 : Réactions enzymatiques utilisant la créatininase et la créatinase pour doser la créatinine [48].

Le peroxyde formé peut alors être mesuré par des réactions du type de la réaction de Trinder avec :

- Le 4-aminophénazone et l'acide 3,5 dichloro-2-hydroxy-benzènesulfonique [21] [34] [48] [52].
- L'acide 2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoïque (TBHBA) et le 4-aminoantipyrine (4-AAP). Lors de cette réaction, des concentrations en bilirubine de 70-180 mg/L diminuent les valeurs de la créatinine de 9 à 53 $\mu\text{mol/L}$ [44]. C'est cette méthode de dosage qui est utilisée par les appareils VetScan [74].

Ces techniques présentent une plus grande sensibilité et une meilleure précision comparées aux précédentes techniques enzymatiques basées sur l'oxydation du NADH [30] [52]. Elles subissent encore l'interférence de substances réductrices (bilirubine, ascorbate...). Certains auteurs préconisent un pré-traitement du sérum par la bilirubine-oxydase, le ferricyanure de potassium ou l'ascorbate-oxydase pour y remédier [6] [7] [41] [52].

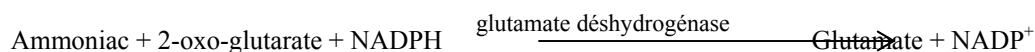
Le deuxième grand principe de détection du peroxyde met en jeu l'utilisation d'une électrode polarisée, ce qui est réservé à quelques analyseurs spécialisés (I-STAT) [48] [31].

Méthodes utilisant la créatinine déaminase

Des bactéries anaérobies ont également été étudiées, ce qui a permis d'isoler la créatinine déaminase encore appelée créatinine iminohydrolase E.C. 3.5.4.21. Cette enzyme catalyse la conversion de la créatinine en N-méthylhydantoïne et en ammoniac [44] [48].

Les premières techniques utilisant la créatinine déaminase se sont concentrées sur la mesure de la production d'ammoniac en utilisant une électrode sensible à l'ammoniac gazeux [31] [48], ou grâce à la réaction de Berthelot [41] [48].

L'ammoniac peut également être dosé par des réactions enzymatiques :



On observe alors une diminution de l'absorbance à 340 nm, ou de la fluorescence à 460 nm consécutive à l'utilisation du NADPH. Cette technique est simple à mettre en œuvre, rapide, facile à automatiser, et présente une bonne précision [22] [41].

Une technique de dosage plus récente utilise la N-méthylhydantoïne amidohydrolase pour former un composé coloré [41].

3. Méthodes en « chimie sèche »

De nombreuses techniques utilisant des supports de réactifs secs, et s'appuyant principalement sur des réactions enzymatiques, ont été décrites pour le dosage de la créatinine [41].

Un premier système, comportant des couches superposées d'émulsions, utilise la créatinine déaminase. L'ammoniac produit diffuse ensuite à travers une couche semi-perméable et optiquement opaque pour réagir avec le bleu de bromophénol et donner un pic d'absorbance vers 600nm. Un film multicouches, sans enzyme, peut être utilisé pour quantifier l'ammoniac endogène. Cette technique était auparavant utilisée par les appareils Kodak Ektachem® [41] [44]. Le glucose est un interférent important de cette technique. Des concentrations sériques en glucose supérieures à 10 g/l réduisent les valeurs de la créatinine d'environ 15% [44]. Ce principe de film multicouches est aujourd'hui exploitée par les analyseurs Vitros® et Vetest®, qui utilisent la créatininase couplée à la créatinase [69] [72].

Une autre approche avec un système de fibres imprégnées utilise la créatininase et la créatinase [48]. C'est le cas par exemple du Réflotron® qui a développé par ailleurs une méthode pour séparer le plasma des hématies, autorisant ainsi des dosages sur sang total [41] [71].

Dans les deux cas, la couleur produite est quantifiée par réflectance. En effet, de tels supports n'étant pas transparents, la lumière ne peut pas les traverser et l'évaluation de l'intensité de la coloration ne peut être faite par lumière transmise mais par lumière réfléchie [8] [9] [41].

Une troisième méthode par chimie sèche a également été décrite. Cette méthode, exploitée par l'analyseur Spotchem® utilise une technique non-enzymatique fondée sur la réaction de la créatinine avec l'acide 3,5-dinitrobenzoïque (cf supra) [41] [70].

Bien que l'exactitude et la spécificité des techniques de mesure de la créatinine se soient grandement améliorées ces dernières années, l'inexactitude des techniques est encore élevée, rendant toute transférabilité hasardeuse. L'inexactitude peut parfois atteindre 17% pour les valeurs hautes de l'intervalle de référence (120 $\mu\text{mol/l}$) en biologie humaine. Elle pourrait même atteindre 30% à des concentrations plus élevées. Ceci limite grandement l'utilisation d'intervalles de référence et de seuils de décision issus de la littérature [10] [33].

4. La Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)

De récents rapports suggèrent que cette méthode de dosage est très sensible et présente une bonne spécificité analytique. Plus de 50 techniques d'analyse de la créatinine par CLHP ont été décrites [1] [39] [47].

Une déprotéinisation des spécimens semble améliorer la spécificité analytique de la mesure de la créatinine par CLHP. De nombreux composants endogènes ou exogènes liés aux protéines sont supprimés sans altérer la quantification de la créatinine [39].

Des études sur les interférences ont démontré que les méthodes HPLC ont une plus grande spécificité analytique que les méthodes conventionnelles.

La déprotéinisation des spécimens combinée aux qualités sélectives des méthodes CLHP en phase mobile rendent peu vraisemblable la présence de nombreux interférents. Ainsi, les méthodes CLHP semblent représenter d'excellentes méthodes de comparaison pour les fabricants. Elles sont citées dans de nombreux travaux comme technique de référence mais n'ont pas été validées comme telles. Elles pourraient servir de base pour avancer vers une standardisation du dosage et une transférabilité des résultats [23].

Caractéristiques des analyseurs de biochimie des cliniques vétérinaires

	VetScan ^[74]	Vetest ^[72]	Réflotron ^[71]	Vitros/Ektachem ^[69]	Spotchem ^[70]
Méthode de dosage	Créatinine puis dosage de l'H ₂ O ₂ en présence de peroxydase : + TBHA + 4-AAP + ascorbate oxydase + ferrocyanure de potassium	creatininase + créatinase + sarcosine-oxydase H₂O₂	+ dérivé benzothiazoline + dérivé aniline + Ascorbate-oxydase	+ leucodérivé	Non enzymatique : Réaction colorée avec l' Acide 3,5- dinitrobenzoïque
Longueur d'onde	550 nm et 630 nm	680 nm	567 nm	670 nm	550 nm
Type de mesure	différence d'absorbance entre les deux longueurs d'onde	En deux points à 4 et 5,5 min	Mesure au point final	En deux points à 3,85 et 5 min	Mesure au point final
Intervalle de référence (µmol/l)	[27 – 115]	[44 – 159]	< 159	[44 – 133]	< 55 + 1,2xPV
Présentation des réactifs	roulette	Plaquette	Bandelette	Plaquette	Bandelette
Conservation et Stabilité des réactifs	→ à 2-8°C jusqu'à date de péremption → moins de 48h à T°C ambiante → ne jamais exposer aux rayons du soleil ou à Temp > 32°C	→ à -18°C jusqu'à date de péremption	→ température ambiante jusqu'à date de péremption	→ Cartouches non ouvertes : à -18°C jusqu'à la date de péremption → 4 semaines entre 2 et 4°C	→ à 2-8°C jusqu'à date de péremption

	VetScan	Vettest	Réflotron	Vitros/Ektachem	Spotchem
Nature du spécimen	Sang total hépariné, plasma, sérum	Plasma, sérum	Sang total, plasma, sérum, urine diluée	sérum, plasma, urine	Sang total, serum
Volume de spécimen	100 µL	10 µL	32 µL	10 µL	44µL (sérum) 250 µL (sang)
Vitesse de mesure	<15 min	5,5 min	3,8 min	5 / 5,5 min	2,5 min
Analyse seule ou groupée	groupée	seule	seule	seule	Seule ou groupée
Calibration	Code barre	Code barre	Bande magnétique	Kit de catibrage	Cate magnétique
Gamme analytique (sérum, µmol/l)	[18 – 1768]	[0 – 1202]	[44 – 884]	[4 – 1238]	[27 – 3536]
précision du constructeur	n = 80 x = 97 µmol/l SD = 12,4 CV = 12,7 % x = 460 µmol/l SD = 23,9 CV = 5,2 %	n = 10 x = 61,9 µmol/l SD = 1,8 CV = 3,1 % x = 150 µmol/l SD = 3,5 CV = 2,2 % x = 982 µmol/l SD = 13,3 CV = 1,3 %	n = 10 x = 163µmol/l CV = 4,4 % x = 447 µmol/l CV = 5,4 %	→ Vitros®_250 n = 79 x = 87 µmol/l SD = 0,9 CV = 1,3 % n = 78 x = 523 µmol/l SD = 4,4 CV = 1,8 %	n = 15 x = 97 µmol/l SD = 4,95 CV = 5,4 % x = 698 µmol/l SD = 15,12 CV = 2,1 %

	VetScan	Vettest	Réflotron	Vitros/Ektachem	Spotchem
Exactitude du constructeur (r = coeff. de corrélation)	comparaison avec Hitachi®911 : pente = 1 r = 0,99 gamme d'échantillon = 53-938 µmol/l	Comparaison avec le Vitros®250 : n = 82 pente = 1,01 r = 0,987	Comparaison avec méthode créat PAP B. Mannheim® : n = 100 y = 1,03 x - 0,0118 r = 0,995	Comparaison de Vitros®250 avec Vitros®700: n = 52 pente = 1,03 r = 0,999 gamme d'échantillon = 44-1167 µmol/l	Comparaison avec une méthode de Jaffé : y = 1,020 x + 0,15 r = 0,994
Spécificité du constructeur	spécimens avec Ht >64%, hémolysés, lipémiques ou ictériques peuvent donner des résultats inexacts		Influence de la sarcosinémie, de l'aspirine et du paracétamol à doses toxiques	Ok si Bili < 20mg/dl, a. ascorbique. < 3mg/l Hb < 150mg/dl Céfaléxine < 1,5mg/dl	Interférents : bilirubine, hémolyse, CO ₂ , a. Acétoacétatique
Contrôle Qualité	→ autocontrôles : au démarrage et à l'insertion d'un disque → spécimen de contrôle : 1 x / mois	→ autocontrôles → spécimen de contrôle : 1 x / mois avec Vettrol®	→ Système optique : 1 x / sem avec R. check → Ensemble du système : avec Réflotron Precinorm® U	→ système : 1 x/j avec Perf. Verifiers Vitros® ou avec Kodatrol®	→ <u>autocontrôle</u>
Entretien	→ extérieur : 1 x / sem → filtre à air : 2 x / an → imprimante : 4 x / an	→ extérieur : si nécessaire → pipetteur : fréquemment → Intérieur : enlever poils, poussière	→ extérieur : si nécessaire → chambre de mesure : 1 x / sem ou toutes les 100 analyses		

Deuxième partie : Matériel et méthodes

I) Schéma expérimental général

Cette étude a visé à contrôler si les laboratoires des cliniques vétérinaires donnaient des résultats comparables pour les analyses de biochimie vétérinaire, en se fondant sur l'exemple de la mesure de la concentration plasmatique de la créatinine, l'analyte le plus fréquemment dosé.

Le protocole général d'étude a donc été le suivant :

- 1/ mise au point d'un questionnaire relatif au fonctionnement du laboratoire des cliniques
- 2/ sélection des spécimens de contrôle
- 3/ sélection des cliniques
- 4/ collecte des données du questionnaire et mesure de la créatininémie dans les deux spécimens de contrôle
- 5/ traitement des données collectées

II) Elaboration du questionnaire

La mise au point du questionnaire a reposé sur les objectifs suivants :

- documenter le matériel utilisé, les utilisateurs, l'entretien, les procédures de contrôle et de maintenance de façon à permettre une éventuelle interprétation d'anomalies observées.
- être suffisamment bref pour être acceptable
- préserver l'anonymat de chacune des cliniques visitées pour le traitement des résultats mais permettre une réponse individuelle vers chaque clinique.

Pour répondre à ces objectifs, le questionnaire présenté en Annexe 1 a été utilisé. Il a été systématiquement rempli par la même personne (EC) pour limiter l'éventuelle variabilité d'informations qualitatives, codé par cette personne qui a gardé tous les originaux et n'a transmis que des documents anonymes.

Le questionnaire a été organisé en quatre parties :

Caractéristiques de la clinique: identité du contact et coordonnées de la clinique, numéro d'anonymat, taille de la structure, activité dominante (canine, bovine, équine), éventuelle spécialisation en biologie de l'un des vétérinaires.

Renseignements sur l'analyseur : marque, date d'achat, aspect extérieur, modalité de réalisation des contrôles de qualité et de l'entretien.

Modalités d'utilisation des réactifs : conservation, date de péremption, manipulation, mise à température ambiante.

Technique de dosage de l'opérateur : observée et coté par EC.

Spécimens de contrôle

Il a semblé utile de comparer l'exactitude des différents analyseurs sur deux spécimens différents, ayant des concentrations en créatinine :

- 1 - voisine du seuil de décision « normal » vs. « pathologique » ;
- 2 - anormalement mais moyennement élevée.

Cela visait à mettre en évidence d'éventuelles erreurs d'interprétation médicale de résultats inexacts, surtout pour l'échantillon de contrôle 1.

Le spécimen N°1 était un lot de sérum de contrôle VetTrol®Control (Idexx, lot B5801). Ce sérum lyophilisé d'origine bovine, de concentration cible = 137 µmol/L a été conservés au congélateur jusqu'à utilisation (péremption : 31 Août 2007). Chaque flacon a été reconstitué selon les indications du fabricant [73], permettant de disposer de 3 mL de spécimen N°1. Le sérum a été ensuite réparti en aliquotes de 0,5 mL puis recongelé pendant au maximum une semaine.

Le spécimen N°2 était une série d'aliquotes congelées (500µL) d'un pool de plasmas héparinés de chiens, chats, bovins et chevaux de la plasmathèque du Laboratoire de Biochimie Médicale des Cliniques de l'ENVT. Les spécimens présentant des signes visibles d'hémolyse, d'ictère ou de lipémie ont été écartés. Le pool de plasma a ensuite été centrifugé pour supprimer les caillots de fibrine formés lors de la décongélation. Puis ce pool de plasma a été « dopé » par addition de créatinine anhydre (fabricant : Sigma n°C4255, lot 035KO168) pour atteindre une concentration moyenne de 250 µmol/L. La concentration finale en créatinine du spécimen N°2 (261 µmol/L) a été déterminée en effectuant la moyenne de cinq mesures successives réalisées avec le Vitros®250.

Pour chaque utilisation, une aliquote a été décongelée à température ambiante, homogénéisée par retournements et centrifugée 5 min à 3000 g pour éliminer les éventuelles traces de fibrine. Les deux spécimens ont ensuite été conservés avant utilisation pendant au maximum 10 heures, réfrigérés en caisse isotherme à environ 4°C. Ces précautions ont été jugées suffisantes pour garantir la stabilité des spécimens [20] [50].

Un fois par semaine, la concentration en créatinine des deux spécimens de contrôle a été mesurée avec l'analyseur Vitros®250 afin de contrôler la stabilité des spécimens.

Collecte des données

Le choix des cliniques vétérinaires n'a pas été totalement aléatoire car cela aurait nécessité des déplacements trop importants, incompatibles avec le temps et le budget disponibles. Il a dépendu :

des zones géographiques situées au voisinage des activités professionnelles ou familiales ; en l'occurrence, n'ont été contactées que des cliniques vétérinaires situées dans un rayon approximatif de 30km autour de Toulouse, Pau, Dijon, Avignon, Poitiers, Millau.

de l'acceptation des cliniques de chacune de ces zones.

Toutes les cliniques répertoriées dans l'annuaire Roy ont été contactées par téléphone pour :

expliquer le but du travail,

demander la participation d'un des vétérinaires pour remplir le questionnaire et la participation de la personne faisant les analyses dans la clinique si elle était différente,

obtenir un rendez-vous.

Cent trente huit cliniques vétérinaires ont été contactées. Les cliniques ne disposant pas d'analyseur de biochimie ont été écartées de l'étude, soit 23/138 cas (17%). Dans les cliniques équipées, le taux d'acceptation a été assez élevé : 99/115 soit 86% de réponses favorables (71% des cliniques contactées). Certaines cliniques possédant plusieurs analyseurs, les dosages ont parfois été effectués sur chacun d'eux. Lors des rendez-vous, il a été impossible de faire les essais dans 1 cas. En bilan, l'enquête a permis de collecter des informations complètes sur 104 analyseurs.

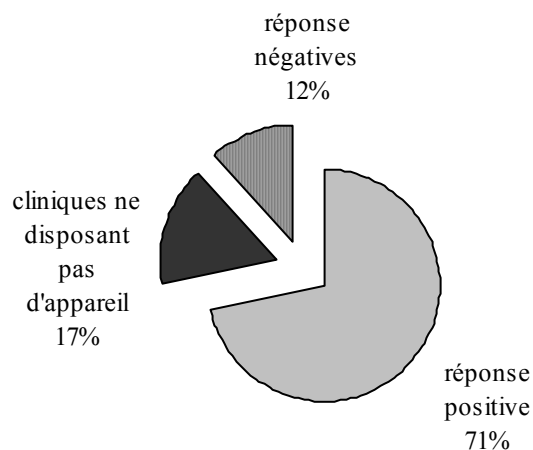


Figure 6 : Pourcentage de vétérinaires participant ou non à l'étude parmi les vétérinaires contactés

Traitement des données

Toutes les valeurs relevées ont été converties en unités du SI, soit en $\mu\text{mol/L}$ pour la créatininémie, en se fondant sur l'équation suivante :

$$\text{Créatinine (mg/L)} * 8,85 = \text{Créatinine } (\mu\text{mol/L})$$

Le contrôle de la stabilité des concentrations en créatinine de chaque spécimen de contrôle a été fait visuellement en reportant les valeurs sur un graphique.

Toutes les données collectées ont été saisies de manière non anonyme dans un tableur Microsoft Excel afin de pouvoir répondre de manière individuelle aux cliniques. Après avoir attribué un numéro d'ordre à chaque clinique, une copie anonyme a été utilisée par toutes les personnes ayant participé à l'étude.

L'analyse des valeurs a reposé sur des tris en fonction des différents facteurs de variation, des éliminations de valeurs aberrantes, des calculs de moyenne, d'écart type, de variance, de coefficients de variation, d'intervalles de confiance, de comparaisons de moyennes. Les calculs ont été effectués avec un tableur Excel et le jeu de macroinstructions analyse-it.

Troisième partie : Résultats

l) Résultats du questionnaire

Quatre-vingt dix neuf cliniques ont accepté de participer à l'étude et 104 analyseurs ont été testés.

Caractéristiques des cliniques vétérinaires rencontrées

1. Taille des cliniques vétérinaires

Les cliniques vétérinaires comprises dans l'étude comportaient en moyenne 2 vétérinaires (distribution : 1-8) et 1,6 ASV en équivalent temps plein (distribution : 0-6). La répartition des cliniques en fonction du nombre de vétérinaires et d'ASV est présentée Figure 7.

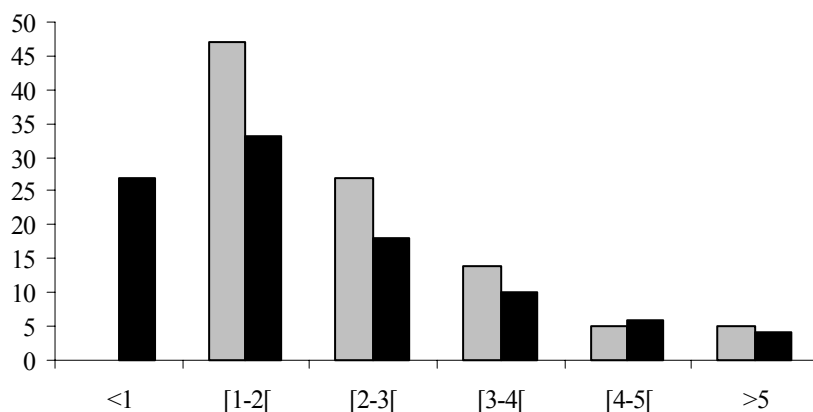


Figure 7 : Répartition des cliniques vétérinaires selon le nombre de vétérinaires (□) et d'ASV (■) y travaillant.

De plus, au moins un des vétérinaires avait suivi une formation en biologie médicale (ex : CES d'hématologie et biochimie clinique animales) dans 17,3% des cliniques.

Secteur d'activité des cliniques vétérinaires

La majorité des cliniques vétérinaires participant à l'étude avait une activité essentiellement canine, soit 85/98 (87%) (Figure 8). Parmi les cliniques à activité mixte, 6/13 (46% soit 6% de l'ensemble des cliniques) étaient à dominante canine, 5/13 (38%) étaient à dominante bovine et 2/13 (15%) présentaient une activité canine et équine.

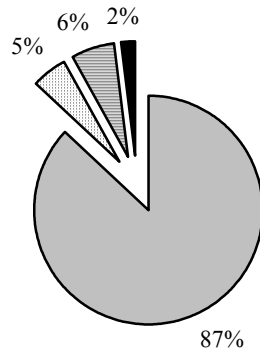


Figure 8 : Répartition des cliniques vétérinaires contactées en fonction de leur secteur d'activité : Canine (■), mixte à dominante bovine (▣), mixte à dominante canine (▤) et Canine/équine (■).

Informations recueillies sur les analyseurs testés

1. Analyseurs rencontrés

Cent-quatre appareils de biochimie ont été testés. Le Vetest[®] a été le plus souvent rencontré, avec 72 cas (69%), précédant le Réflotron avec 22 cas (21%). Le VetScan[®] (3/101), l'Ektachem[®] (3/101) et le Spotchem[®] (1/101) n'ont pas souvent été testés. Aucun MScan[®] II n'a pu être inclus dans l'étude. Enfin, seulement 3 analyseurs en « chimie humide » ont pu être observés.

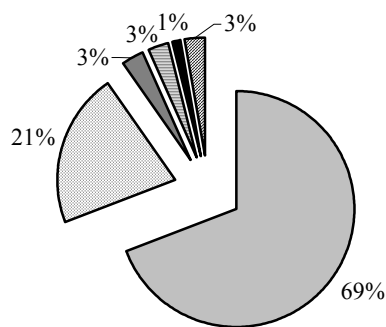


Figure 9 : Répartition des cliniques selon l'analyseur utilisé : Vetest (■), Réflotron (▣), VetScan (▤), Ektachem (■), Spotchem (■) et analyseur en « chimie humide » (▣).

2. Ancienneté de l'appareil et aspect extérieur

Les analyseurs rencontrés avaient une moyenne d'âge de 9,8 ans (2 mois – 18 ans). Les analyseurs Vetest présentaient une moyenne d'âge de $9,6 \pm 1,0$ ans et les analyseurs Réflotron un âge moyen de $11,1 \pm 2,2$ an.

L'aspect extérieur de l'analyseur a été évalué par une cote allant de 1 (bon) à 3 (mauvais). Une cote moyenne de 1,76 a été obtenue. Cependant, les Vetest, avec une cote de $1,7 \pm 0,13$ avaient en général un meilleur aspect extérieur que les Réflotron (cote de $2 \pm 0,38$).

3. Contrôle qualité

Les réponses des vétérinaires ayant acquis un analyseur depuis moins d'un an et n'ayant donc pas encore eu le temps de mettre en place un contrôle de qualité n'ont pas été prises en compte.

Des contrôles de qualité avaient été effectués sur 52% des analyseurs. Cependant, de grandes différences ont été notées. 18/21 soit 85,7% des Réflotron avaient été contrôlés à l'aide du Réflotron® Check qui ne vérifie que les performances optiques du système ; aucun d'entre eux n'avait été vérifié avec des sérums de contrôle. Seuls 29/71 soit 40,8% des Vetest avaient subi un contrôle de qualité. Seulement 35/104 soit 33,7% des systèmes analytiques avaient été entièrement contrôlés à l'aide de sérums de contrôle spécifiques.

Les contrôles de qualité des analyseurs en « chimie sèche » avaient été effectués en moyenne 13,1 fois par an mais là encore de grandes variations entre les différents modèles d'analyseurs ont été mises en évidence. Les Réflotron avaient été contrôlés plus fréquemment que les Vetest, soit une moyenne de $26,4 \pm 12,3$ fois par an contre $4,1 \pm 1,4$ pour les Vetest (Figure 10). Les analyseurs en « chimie humide » avaient subi des contrôles très fréquents, soit 103 fois par an en moyenne (échantillon de 3 appareils). Finalement, 20/104 soit 19,2% des appareils avaient été vérifiés à une fréquence acceptable d'au moins 8 fois par an.

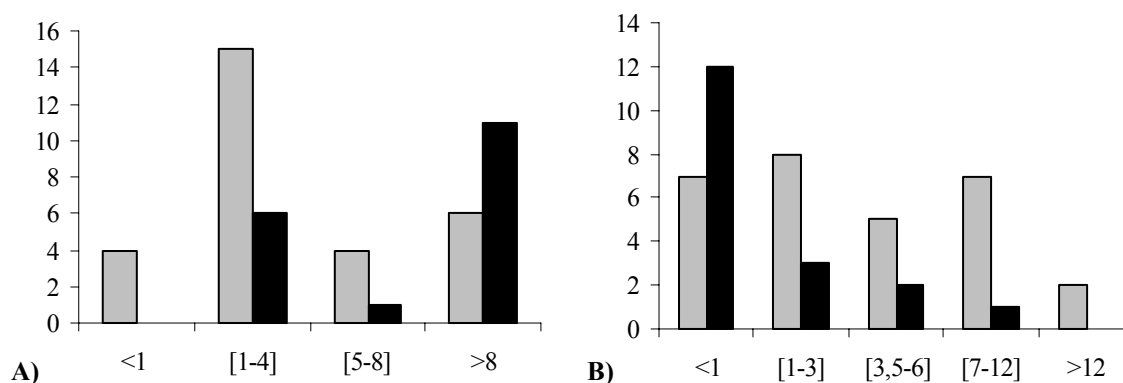


Figure 10 : Répartition des analyseurs Vetest (□) et Réflotron (■) qui ont fait l'objet d'un contrôle qualité par la clinique selon A) le nombre de contrôles de qualité effectués chaque année B) le temps (en mois) écoulé depuis le dernier contrôle de qualité au moment de la visite de la clinique.

4. Nettoyage/maintenance

Les réponses des vétérinaires ayant acquis un analyseur depuis moins d'un an n'ont pas été prises en compte.

Des nettoyages avaient été effectués sur 59/99 (59,6%) des appareils en « chimie sèche » et en moyenne 12,4 fois par an. Les Réflotron avaient été plus fréquemment entretenus que les Vetest avec une moyenne de 26,0 fois ($\pm 12,7$) par an contre 4,2 ($\pm 1,9$) pour les Vetest. Le jour des tests, une période moyenne de 126 jours s'était écoulée depuis la dernière maintenance. (Figure 11.)

Ici encore, ce sont les analyseurs en « chimie humide » qui avaient été le plus fréquemment entretenus avec une moyenne de 500 fois par an.

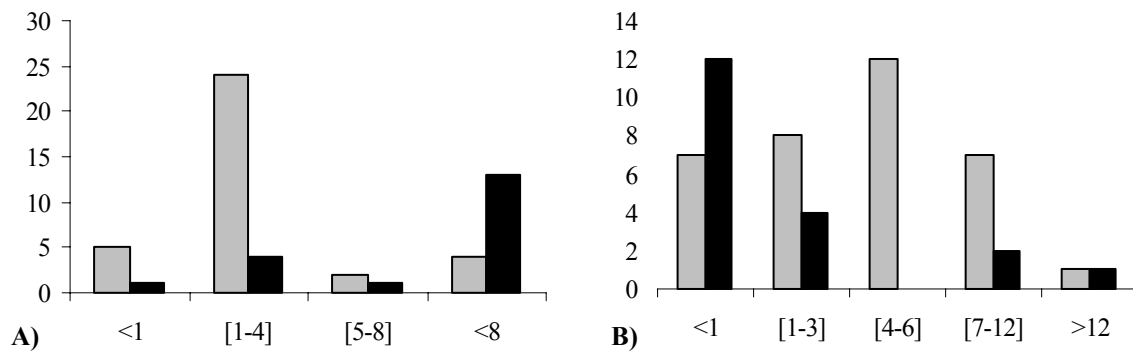


Figure 11 : Répartition des analyseurs Vetest (■) et Réflotron (■) qui ont fait l'objet d'un entretien par la clinique selon A) le nombre de maintenances réalisées chaque année B) le temps (en mois) écoulé depuis la dernière maintenance au moment de la visite de la clinique.

Modalités d'utilisation des réactifs

91,3% des réactifs étaient conservés selon les recommandations des fabricants et 2% étaient périmés ; il s'agissait exclusivement de réactifs de Réflotron (2/22 soit 9%). Lors du test de contrôle qualité, les réactifs ont été manipulés correctement dans la majorité des cas (96,2%) mais seulement 30,6% ont été ramenés à température ambiante avant utilisation.

Technique de dosage de l'opérateur

1. Personne réalisant les mesures

Dans la majorité des cliniques, les vétérinaires aussi bien que les ASV ont réalisé les dosages, soit 41/98 (42%). Lorsqu'un seul vétérinaire était présent dans la clinique, il a été classé dans la catégorie « le même vétérinaire », il en a été de même pour les ASV. Dans les cliniques où plusieurs vétérinaires/ASV collaborent, le même vétérinaire faisait les analyses dans 3 cas/85 et le/la même ASV effectuait les mesures dans 3 cas/85.

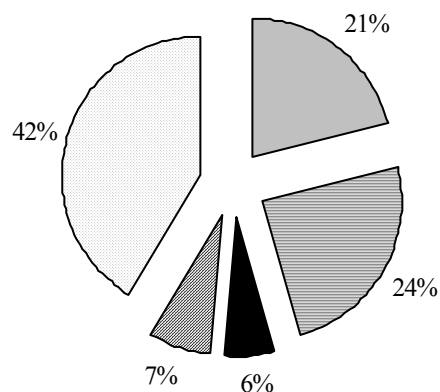


Figure 12 : Personnes réalisant les mesures de biochimie dans les cliniques vétérinaires : le même vétérinaire (■), tous les vétérinaires (◻), le(la) même ASV (■), tous les ASV (◻), tout le monde (◻).

2. Manipulation des spécimens

Dans la grande majorité des cas, le bon volume de spécimen a été déposé sur les réactifs (94% des cas). Néanmoins, lors d'une éventuelle mauvaise manipulation de la pipette, il a été difficile d'évaluer si le bon volume de spécimen avait été prélevé. Les principales erreurs ayant été relevées sont : pipette non essuyée, indication du Vetest non suivies (essuyage trop précoce, pipette plongée dans le sérum après le début de l'aspiration...), pipette qui touche la bandelette réactive du Réflotron.

3. Paramètres pris en compte pour interpréter la créatininémie

Parmi les vétérinaires interrogés, certains ont déclaré tenir compte des paramètres suivant pour interpréter les résultats de la créatininémie :

- Animal à jeun : 31% des cas
- Plasma ictérique : 28% des cas
- Plasma hémolysé : 29% des cas
- Plasma lipémique : 27% des cas

74/100 (74%) des vétérinaires utilisent l'intervalle des valeurs usuelles du constructeur, 23/100 (23%) utilisent des intervalles issus de la littérature. Certains vétérinaires déclarent tenir compte de la masse musculaire et 3/100 (3%) se servent de valeurs usuelles de la créatininémie calculées en fonction du poids du chien.

II) Résultat des mesures de la créatininémie

A. Stabilité des spécimens de contrôle sur l'analyseur Vitros

Afin de contrôler la stabilité des spécimens utilisés dans l'étude, la créatininémie a été dosée toute les semaines avec le Vitros[®]250.

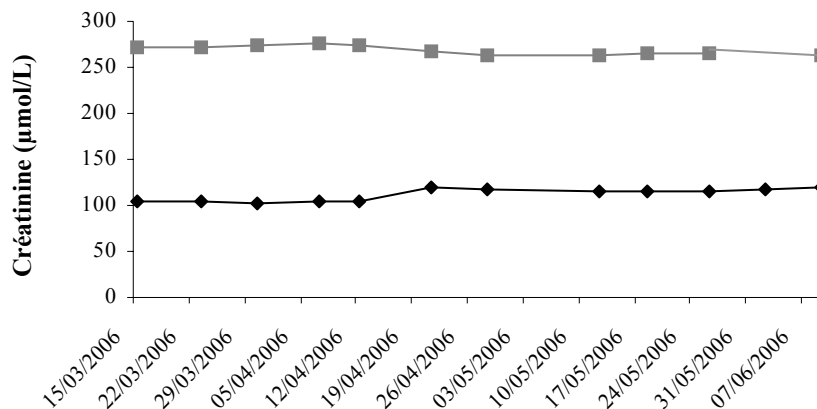


Figure 13 : Evolution de la concentration en créatinine des spécimens de contrôle N°1 (—◆—) et N°2 (—■—) au cours du temps mesurée sur le Vitros[®]250.

La concentration de la créatinine a varié de manière significative dans les deux spécimens (ANOVA, $P < 0,05$). Cependant, dans le spécimen N°2, la variation a été très faible ($CV = 1,76\%$), similaire aux données du fabricant ; la moyenne $269 \mu\text{mol/L}$ n'était pas analytiquement différente de la valeur initiale mesurée ($261 \mu\text{mol/L}$). Il a été arbitrairement décidé de conserver cette moyenne de $269 \mu\text{mol/L}$ comme cible.

Le spécimen N°1 a montré une évolution de stabilité brutale entre deux phases : la première où la concentration est restée stable en moyenne à $104 \mu\text{mol/L}$ et la deuxième en moyenne à $117 \mu\text{mol/L}$. Aucune raison n'a pu être trouvée pour expliquer cette différence. Par conséquent, pour ce spécimen, tous les résultats ont été comparés aux moyennes respectives aux dates correspondantes.

B. Résultats des dosages

1. Résultats bruts

Les écarts entre les valeurs observées lors des contrôles et les cibles des spécimens sont rapportés dans le Tableau I (en tenant compte du décalage de la concentration du spécimen N°1). On peut observer que l'écart moyen a été beaucoup plus élevé pour le spécimen de contrôle N°1 qui a une concentration voisine du seuil de décision que pour le spécimen N°2 qui a une valeur forte. Dans les 2 cas, la dispersion des valeurs observées a

été grande (Figure 14), mais cela est en partie lié à 2 écarts élevés, alors que la majorité des résultats est plus groupée. Ces deux écarts ont été observés dans deux sites pour les deux spécimens de contrôle.

	S1-Cible	S2-Cible	S1-Cible-2	S2-Cible-2
Moyenne	23,3	-7,3	22,1	-9,0
Médiane	27,5	-7,9	27,3	-7,9
Écart-type	19,76	19,15	17,72	14,99
Plage	120,4	159,3	69,9	89,4
Minimum	-24,4	-65,5	-24,4	-65,5
Maximum	96,0	93,9	45,6	23,9
Nombre d'échantillons	104	104	102	102

Tableau I : Statistiques descriptives des écarts entre les valeurs des concentrations en créatinine ($\mu\text{mol/L}$) des contrôles dans les cliniques vétérinaires et les cibles des spécimens de contrôle, tous appareils confondus. Les deux colonnes de droite correspondent aux résultats obtenus en ayant éliminé les résultats considérés comme aberrants obtenus sur deux sites.

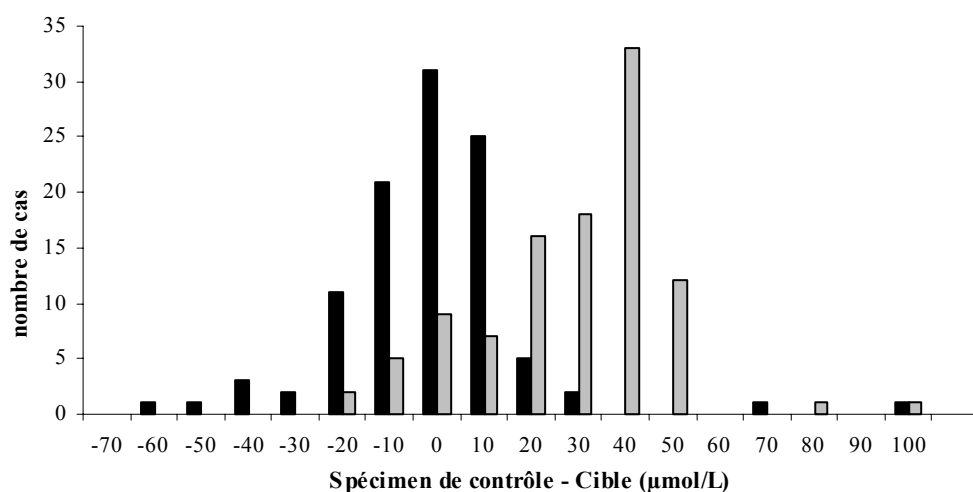


Figure 14 : Histogramme des écarts entre les mesures des concentrations en créatinine ($\mu\text{mol/L}$) des spécimens N°1 (□) et N°2 (■) et les cibles correspondantes, tous appareils confondus.

Il est intéressant d'observer que par rapport à l'analyseur Vitros les écarts ont consisté très majoritairement en :

- une sous-évaluation du spécimen de contrôle N°2: 70 % des sites
- une surévaluation du spécimen N° 1 : 85 % des sites

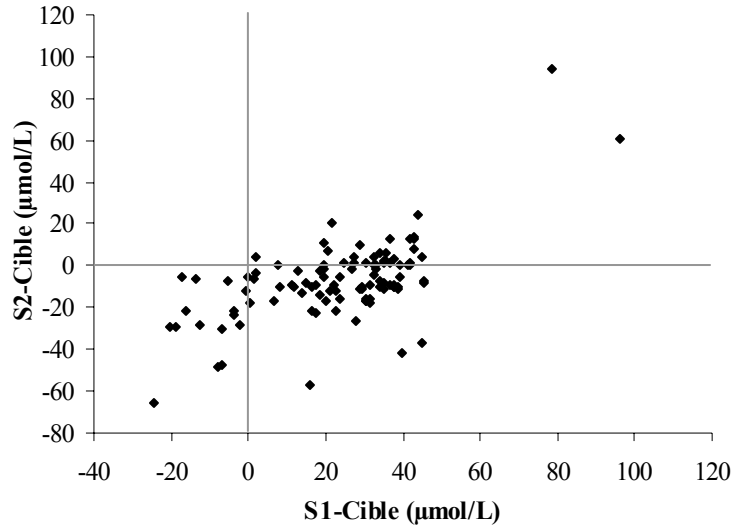


Figure 15 : Représentation de l'écart à la cible des concentrations en créatinine du spécimen de contrôle N°2 en fonction de l'écart à la cible des concentrations en créatinine du Spécimen N°1 pour chaque site, tous analyseurs confondus.

L'analyse du résultat des mesures de la créatininémie des deux spécimens de contrôle par site permet également d'évaluer si ce sont les mêmes appareils qui surévaluent ou qui sous-évaluent la créatininémie. On a ainsi observé une sous-évaluation ou une surévaluation des deux contrôles dans 15 % et 30 % des sites respectivement (Figure 15).

2. Résultats en fonction des équipements

Les valeurs brutes obtenues lors des contrôles sont présentées Figure 16, sans tenir compte du décalage observé pour le spécimen de contrôle 1.

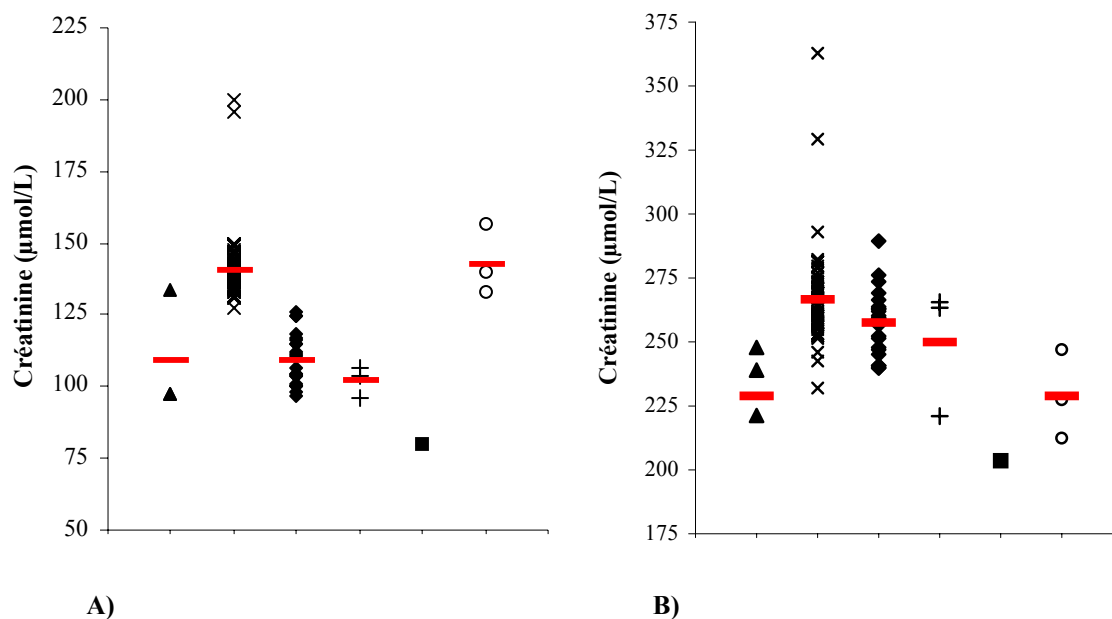


Figure 16 : Distribution des mesures de la créatinine des spécimens N°1(A) et 2(B) selon les analyseurs VetScan (▲), Vetest (×), Réflotron (◆), Ektachem (+), Spotchem (■) et les analyseurs en chimie humide (○).

Pour tenir compte du décalage du spécimen N°1, la distribution des différences entre les valeurs des contrôles et les cibles correspondantes est représentée Figure 17.

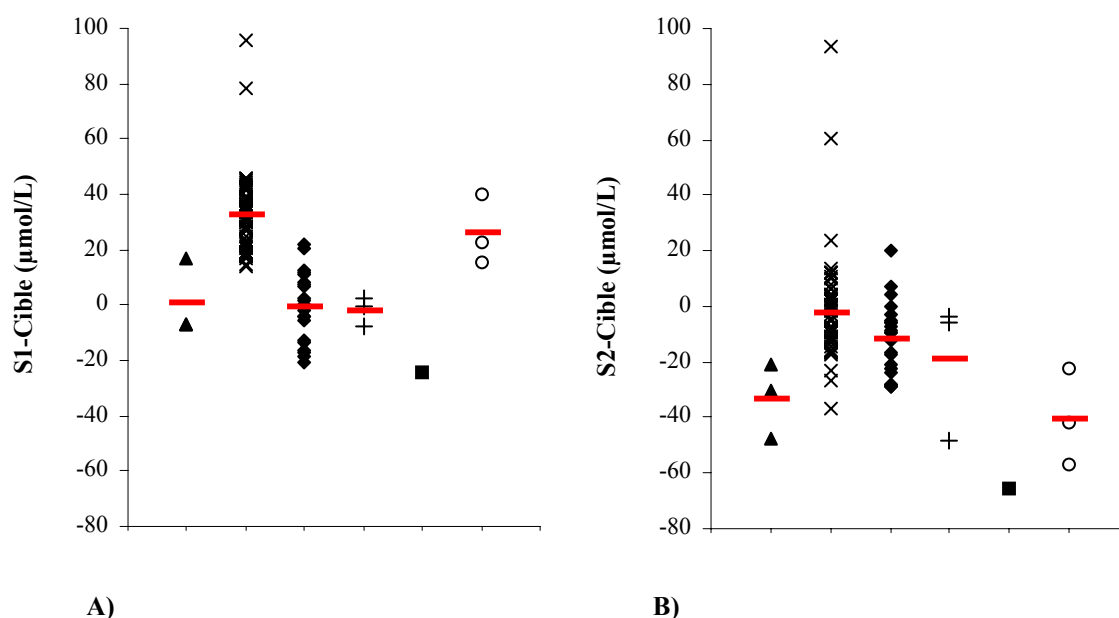


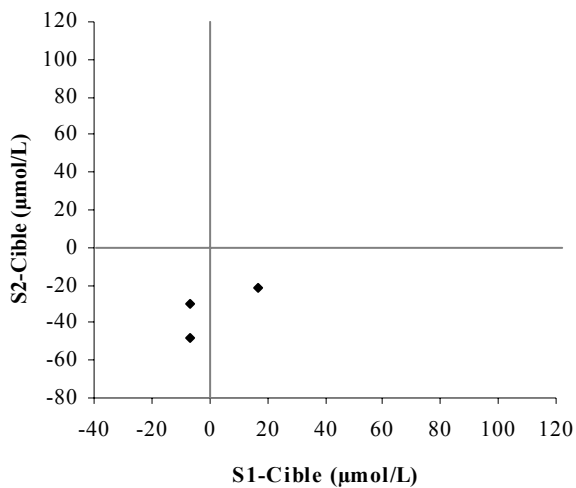
Figure 17 : Distribution des écarts entre les mesures de la créatinine des spécimens N°1(A) et 2(B) et les cibles correspondantes selon les analyseurs VetScan (▲), Vetest (×), Réflotron (◆), Ektachem (+), Spotchem (■) et les analyseurs en chimie humide (○).

Pour chaque clinique vétérinaire, la différence entre les mesures de la créatinine des deux spécimens de contrôle et les cibles correspondantes est représentée Figure 18. Les résultats sont regroupés par modèle d'analyseur.

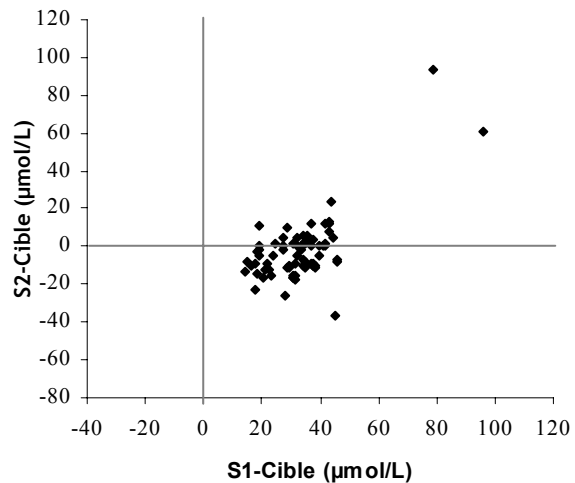
Par rapport au Vitros :

- Les analyseurs Vetest surévaluent systématiquement le spécimen N°1 et surévaluent les deux spécimens dans 42 % des cas. Au contraire, les analyseurs Réflotron sous-estiment le spécimen N°2 dans 86 % des cas et sous-évaluent les deux spécimens dans 50 % des cas.

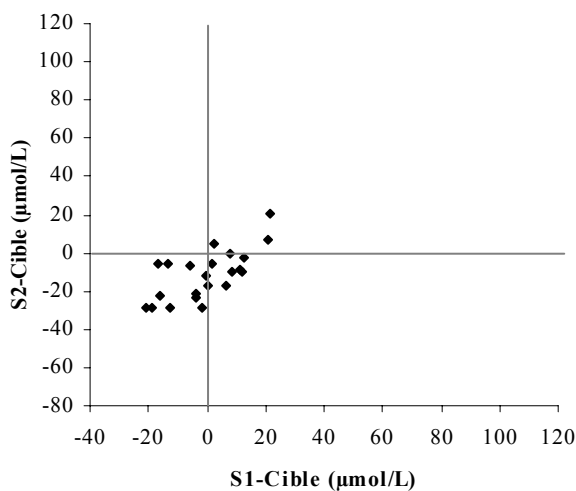
- Les autres modèles d'analyseur n'ont pas été étudiés sur un nombre suffisant de cas pour permettre de conclure. Les observations montrent que les appareils VetScan et Spotchem ont sous-évalué les mesures. Deux des trois appareils Ektachem n'ont présenté quasiment aucune différence à la cible. Les trois appareils en chimie humide testés ont surestimé le spécimen N°1 et sous-estimé le spécimen N°2.



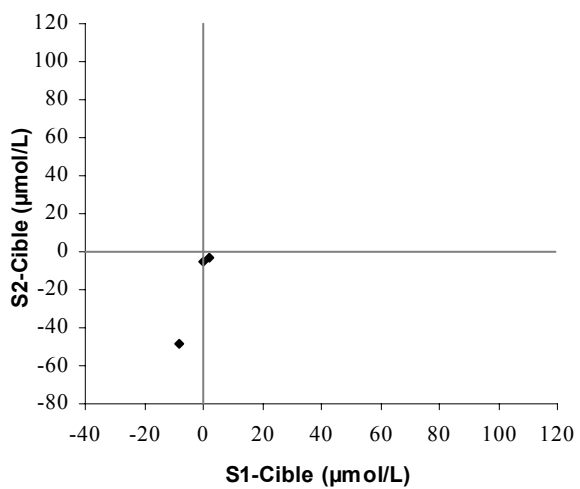
A) Analyseurs VetScan



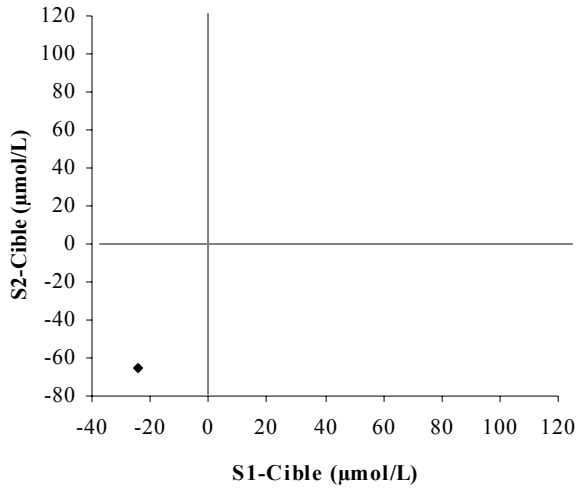
B) Analyseurs Vetest



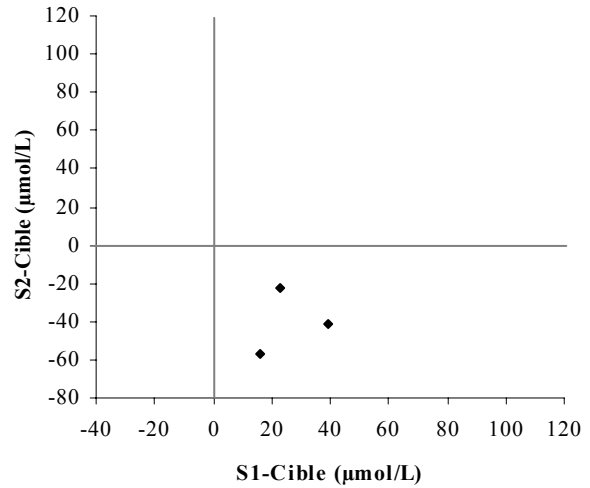
C) Analyseurs Réflotron/Réflonet



D) Analyseur Ektachem



E) Analyseur Spotchem



F) Analyseurs en « chimie humide »

Figure 18 : Ecart à la cible de la concentration en créatinine du spécimen de contrôle N°2 en fonction de l'écart à la cible de la concentration en créatinine du Spécimen N°1 pour chaque site, et par type d'appareil.

3. Résultats en fonction de la personne réalisant les mesures

Dans cette étude, les mesures de la créatinine des spécimens de contrôle n'ont pas varié de manière significative selon la personne réalisant les dosages (Figure 19). On note néanmoins une distribution plus grande des valeurs lorsque tous les vétérinaires ou lorsque tous les vétérinaires et tous les ASV réalisent les dosages.

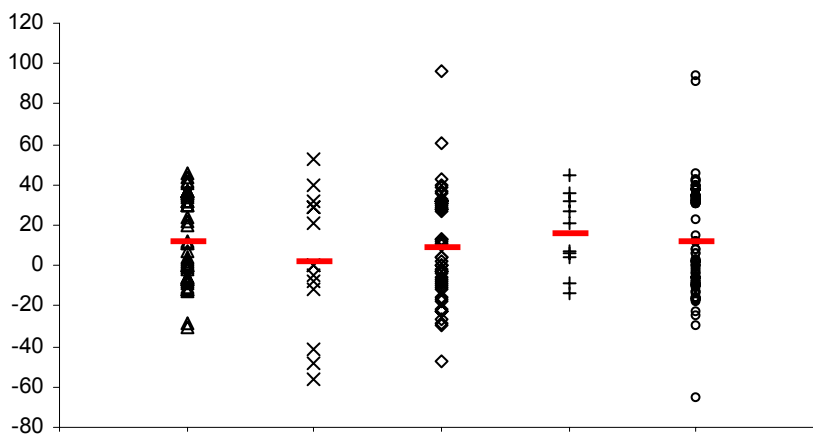


Figure 19 : Distribution de l'écart des mesures de la créatinine des deux spécimens de contrôle au cibles correspondantes en fonction de l'opérateur: le même vétérinaire (Δ), le(la) même ASV (\times), tous les vétérinaires (\diamond), tous les ASV ($+$), tout le monde (\circ)

4. Résultats selon les modalités de réalisation du contrôle de qualité

Les appareils soumis à un contrôle de qualité et ceux qui n'en ont pas semblent à première vue donner des résultats similaires (Figure 20).

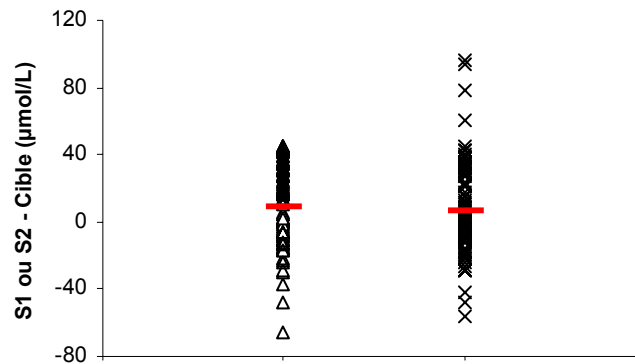


Figure 20 : Distribution de l'écart des mesures de la créatinine des deux spécimens aux cibles correspondantes selon qu'un contrôle de qualité à été réalisé (X) ou non (Δ).

Les moyennes des écarts à la cible des mesures ont été respectivement de 7 et 10 μmol/L dans les sites effectuant et n'effectuant pas de contrôle qualité.

En revanche, parmi les appareils subissant un contrôle de qualité, on observe que l'écart à cible diminue lorsque le nombre de contrôles de qualité effectués augmente (Figure 21). Cela n'a par contre aucun effet sur la dispersion des résultats.

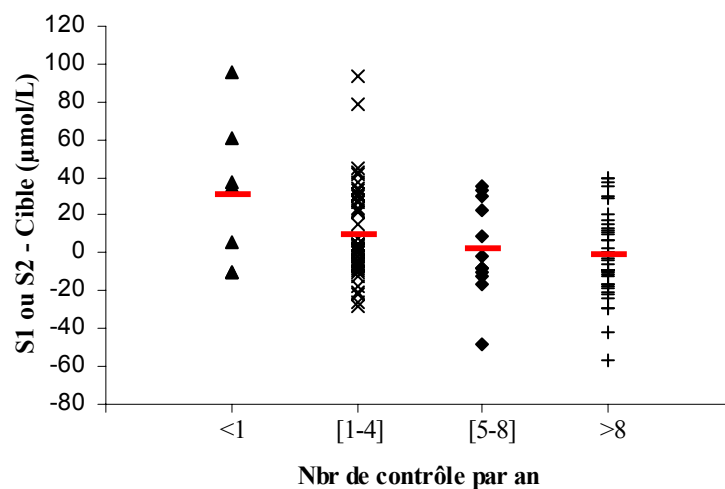


Figure 21 : Parmi les cliniques vétérinaires réalisant un contrôle de qualité, distribution des écarts à la cible des mesures de créatininémie selon le nombre de contrôles de qualité réalisés chaque année.

5. Résultats selon les modalités de réalisation de l'entretien

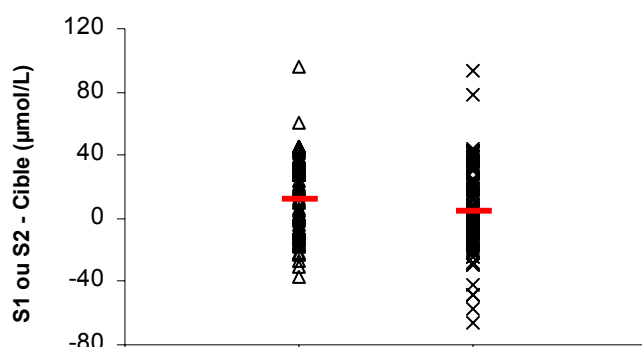


Figure 22 : Distribution de l'écart des mesures de la créatinine des deux spécimens aux cibles correspondantes selon que l'entretien a été réalisé (×) ou non (△).

On observe peu de différences entre les écarts des mesures de créatininémie des deux spécimens de contrôle aux cibles correspondantes des appareils non soumis à un entretien et des appareils ayant eu un entretien (Figure 22). Avec des moyennes respectives de 12 et 5 µmol/l, les écarts sont légèrement plus élevés pour les appareils non soumis à un entretien que pour ceux qui ont eu un entretien.

Tout comme pour les cliniques réalisant un contrôle de qualité de leur analyseur, on observe une diminution des écarts lorsque le nombre de nettoyages réalisés chaque année augmente (Figure 23).

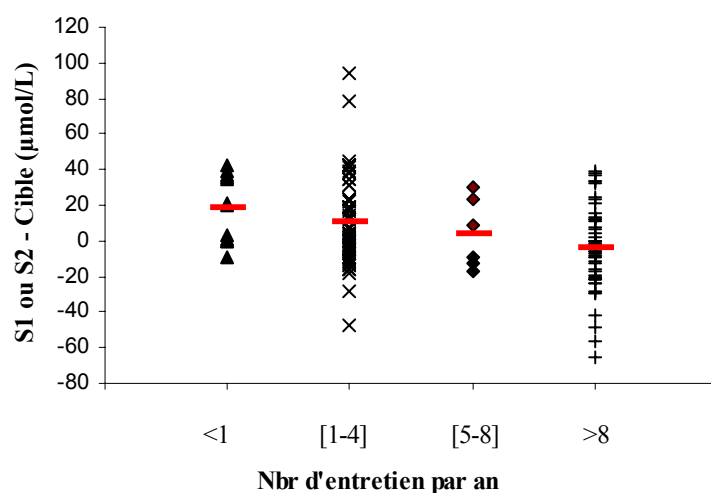


Figure 23 : Parmi les cliniques vétérinaires réalisant un entretien de leur analyseur, distribution des écarts des mesures de créatininémie des deux spécimens de contrôle aux cibles correspondantes selon le nombre de nettoyages réalisés chaque année.

6. Résultats selon la technique de dosage

Lorsque les réactifs ont été conservés selon les recommandations du fabricant, on observe une plus grande dispersion des écarts entre les mesures de la créatinine des spécimens N°1 et 2 et les cibles correspondantes (Figure 24 A.). Cependant, un nombre beaucoup moins important de mesures a été réalisé à l'aide de réactifs périmés, rendant toute conclusion hasardeuse.

Lorsque les réactifs sont ramenés à température avant analyse, la moyenne et la dispersion des écarts sont plus faibles (Figure 24 B).

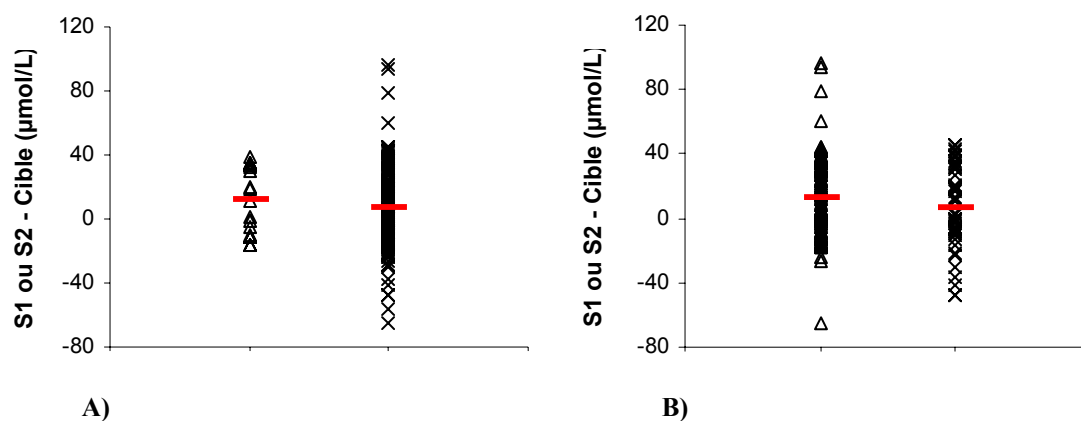


Figure 24 : Distribution de l'écart des mesures de la créatinine des deux spécimens de contrôle aux cibles correspondantes selon que les réactifs : A) ont été conservés selon les indications du fabricant (×) ou non (Δ) ; B) ont été ramenés à température ambiante (×) ou non (Δ) avant l'analyse.

Quatrième partie : Discussion

l) Méthodologie

A. Choix des cliniques vétérinaires

Le choix des cliniques vétérinaires n'a pas été totalement aléatoire car cela aurait nécessité des déplacements trop importants, incompatibles avec le temps et le budget disponibles. Néanmoins, les principaux types de cliniques sont représentés (petite/grande structure, activité canine/rurale, clinique de campagne/ville, vétérinaires spécialistes/généralistes...) et l'échantillon est composé d'une centaine de cas.

Si les conclusions de l'étude ne sont pas tout à fait généralisables à l'ensemble des cliniques vétérinaires, l'échantillon retenu permet tout de même de représenter de façon acceptable les cliniques vétérinaires françaises.

B. Collecte des données du questionnaire

1. Nombre de cas trop faible pour certains modèles d'analyseurs

Si pour les analyseurs Vetest (72 cas) et Réflotron (22 cas) un nombre satisfaisant de cas a pu être étudié, trop peu d'appareils VetScan (3 cas), Ektachem (3 cas), Spotchem (1 cas) ou en « chimie humide » (3 cas) ont pu être testés pour que les résultats soient représentatifs.

2. Problème d'évaluation de la « mise à température ambiante » des réactifs

Lors de l'évaluation de la mesure de la créatinine, deux spécimens de contrôle ont été successivement dosés. Il était alors noté si la personne effectuant les mesures mettait les réactifs à température ambiante avant l'analyse. Or, les deux lots de réactifs (plaquettes/roulettes) était décongelés en même temps et le temps écoulé entre les deux dosages variait de 7 à 20 minutes. Si la première plaquette/roulette n'était pas mise à température ambiante avant l'analyse, la deuxième était quasiment décongelée, vu le temps écoulé entre les deux analyses.

Il a été considéré que les réactifs n'étaient pas mis à température ambiante lorsque la première analyse était effectuée immédiatement. L'influence de la température sur le résultat des dosages a été difficile à évaluer car le premier spécimen à doser n'a pas été choisi de manière aléatoire. Le spécimen N°1 était souvent dosé en premier, le spécimen N°2 nécessitant d'être au préalable centrifugé.

II) Fonctionnement du laboratoire des cliniques vétérinaires

A. Technique de mesure de l'opérateur

1. Mauvaise conservation des réactifs

Les réactifs étaient parfois conservés dans de mauvaises conditions (9,1% des cas), souvent par ignorance ou bien parce que les vétérinaires estiment que cela n'a aucune influence. Dans 9/72 cliniques, les plaquettes de Vetest étaient conservées au réfrigérateur au lieu d'être au congélateur bien que les fabricants indiquent que ne pas conserver les réactifs à -18°C peut altérer la fiabilité du dosage.

2. Utilisation de réactifs périmés

Neuf pourcent des utilisateurs de Réflotron utilisent des réactifs périmés. D'autres ont déclaré recourir à ces pratiques de façon occasionnelle, en fin de lot notamment. Les conditionnements des réactifs sont perçus comme trop importants pour l'activité de certaines cliniques vétérinaires.

3. Réactifs non ramenés à température ambiante

Dans 69,4% des cliniques vétérinaires, les réactifs ne sont pas ramenés à température ambiante avant l'analyse. Les principales raisons avancées sont le manque de temps, l'ignorance ou la certitude que « cela ne sert à rien ».

4. Manipulation approximative de la pipette

La pipette a parfois été manipulée de manière approximative (5% des cas mais ce chiffre est certainement sous évalué cf. 3^e partie I.D.2.), par manque d'application ou par ignorance. Beaucoup de vétérinaires pensent que le volume de spécimen déposé sur les réactifs n'entre pas vraiment en compte dans le résultat du dosage.

B. Paramètres pris en compte pour interpréter la créatininémie

1. Caractéristiques du sérum

L'influence de la couleur du sérum sur le résultat des dosages de créatinine n'est pas vraiment connue des vétérinaires. De plus, les vétérinaires utilisant l'analyseur Réflotron effectuant les mesures le plus souvent sur sang total, l'aspect du sérum n'est pas toujours connu.

Soixante-neuf pourcent des vétérinaires contactés ne demandent pas d'avoir l'animal à jeun lors d'une mesure de la créatininémie, considérant les variations comme négligeables. Bien qu'une étude réalisée sur 5 chiens des deux sexes ait montré que la créatininémie ne variait pas de manière significative avec la prise alimentaire ^[15], la plupart des études montrent que la concentration de la créatinine plasmatique est influencée par l'ingestion de viande ^{[16] [24] [35] [54]}. Lors d'insuffisance rénale légère, les valeurs de la créatininémie vont rester proches de l'intervalle de référence, et une augmentation de la créatininémie de 10 à 20 $\mu\text{mol/L}$ due à une aggravation progressive de l'insuffisance rénale peut être cachée par l'alimentation. Il est donc impératif de collecter le sang des chiens après une diète de plus de 12 heures pour limiter les effets de l'alimentation sur la créatininémie.

2. Intervalles de référence parfois inadaptés

Parmi les vétérinaires contactés, 23% utilisent des intervalles de référence issus de la littérature. Ils ont déclaré ignorer le plus souvent que les résultats des mesures de la créatininémie variaient de manière significative selon les modèles d'analyseurs et que les valeurs de référence n'étaient pas transposables d'un appareil à l'autre ^[34]. D'autres n'interprètent que les valeurs situées bien au-delà de la limite supérieure de l'intervalle des valeurs usuelles. Enfin, certains tiennent compte de la masse musculaire du chien. En effet, les muscles squelettiques contenant 95% de la créatine de l'organisme, les chiens à forte masse musculaire présentent des concentrations plasmatiques en créatinine plus élevées ^{[17] [25] [36] [45]}.

C. Pas de spécialisation du poste

Très peu de cliniques ont choisi pour des raisons pratiques d'avoir une personne plus spécialement dévolue aux mesures de biochimie (6/98 cas). Ce choix permettrait pourtant :

- une meilleure familiarisation avec les conditions d'analyse,
- de limiter les erreurs de mesures causées par l'opérateur,
- de coordonner les contrôles de qualité/entretiens des analyseurs.

D. Des contrôles de qualités négligés

Dans les cliniques vétérinaires contactées, 52% des analyseurs étaient contrôlés mais seulement 35/104 (33,7%) des appareils étaient contrôlés à l'aide de sérums de contrôle. Cette différence s'explique par le fait que les Réflotron de l'étude sont uniquement contrôlés à l'aide du Reflotron[®] Check qui ne vérifie que les performances optiques du système. Cela tient alors lieu de contrôle même si ce n'est pas équivalent à un véritable contrôle de qualité vérifiant l'ensemble du système analytique.

Certains vétérinaires effectuaient des contrôles lors de l'acquisition de l'appareil, puis ont arrêté d'en faire. Les principales raisons évoquées sont :

- « trop onéreux »
- « trop long à réaliser »
- « inutile »

Les résultats des contrôles de qualité sont d'après eux toujours dans la gamme des valeurs acceptables fournie par le fabricant et ne leur apportent rien.

E. Méconnaissance de la réalisation pratique du nettoyage

Les vétérinaires contactés ont déclaré ne pas toujours savoir comment nettoyer leur analyseur ou ignorer l'importance que peut avoir un entretien régulier sur la qualité des mesures. Il pourrait être intéressant que les fabricants insistent davantage sur les procédures de maintenance.

III) Résultats des mesures

A. Exactitude et distribution des mesures de la créatininémie

A l'exception des mesures réalisées sur deux sites, l'ensemble des résultats a été relativement homogène. Par rapport au Vitros, en écartant les deux valeurs aberrantes, l'écart moyen a été beaucoup plus grand pour le spécimen N°1 (22,1 $\mu\text{mol/L}$) que pour le spécimen N°2 (-9 $\mu\text{mol/L}$). La distribution des écarts à la cible des mesures de la créatinine a été également plus grande pour le spécimen N°1 que pour le spécimen N°2 (Ecart-type1 = 17,72 $\mu\text{mol/L}$ et Ecart-type2 = 14,99 $\mu\text{mol/L}$).

L'exactitude et la précision de la mesure de la créatinine ont donc été moins bonnes pour le spécimen N°1, proche de la valeur supérieure de l'intervalle de référence du chien. Il est pourtant important d'obtenir les

mesures les plus exactes et les plus précises possibles au voisinage de ce seuil de décision afin de limiter les erreurs de diagnostic.

De précédentes études chez le chien ^[30] et chez l'homme ^{[23] [52]} ont également objectivé une amplitude plus grande des valeurs et une inexactitude plus forte pour les sérums ayant une créatininémie proche de l'intervalle de référence que pour les sérums ayant des concentrations en créatinine bien supérieures.

B. Valeurs non transférables d'un appareil à l'autre

Les résultats obtenus par les différents analyseurs ont été hétérogènes. Le Vetest et le Réflotron, qui reposent sur le même principe de mesure de la créatininémie ont pourtant produit des valeurs différentes. Dans notre étude, par rapport au Vitros, les analyseurs Vetest ont surévalué le plus souvent les concentrations en créatinine des deux spécimens alors que les analyseurs Réflotron les ont sous-évaluées la plupart du temps.

La valeur de la cible du spécimen de contrôle N°1 pour l'analyseur Vetest donnée par le constructeur est de 137 $\mu\text{mol/L}$ avec un intervalle de valeurs acceptables de [129-150]. Cette valeur est beaucoup plus élevée que la valeur cible de notre étude, fixée à partir de mesures réalisées sur le Vitros. L'écart à cette nouvelle cible des mesures de la créatininémie des Vetest de cette étude est alors beaucoup plus faible (4 $\mu\text{mol/L}$) mais la dispersion reste la même. Excepté les deux valeurs aberrantes, la totalité des mesures de créatininémie a été comprise dans l'intervalle des valeurs acceptables du fabricant.

Les autres modèles d'analyseur n'ont pas été étudiés sur un nombre suffisant de cas pour permettre de conclure. Deux des trois appareils Ektachem n'ont présenté quasiment aucune différence à la cible, ce qui est cohérent étant donné que les analyseurs Ektachem et Vitros utilisent les mêmes réactifs pour le dosage de la créatininémie.

Par rapport au Vitros, l'analyseur Spotchem de notre étude a sous-évalué les deux spécimens de contrôle. Une étude comparant le Spotchem au Vitros a montré au contraire que le Spotchem a tendance à surévaluer les valeurs de la créatininémie ^[51].

Les trois appareils en chimie humide testés ont surestimé le spécimen N°1 et sous-estimé le spécimen N°2. Plusieurs études chez le chien ^{[30] [42]} ou chez l'homme ^{[23] [52]} ont montré que les techniques s'appuyant sur la méthode de Jaffé standard surévaluent les mesures de la créatininémie par rapport aux techniques enzymatiques.

La grande majorité des études sur le sujet a observé des écarts significatifs selon l'analyseur utilisé et leurs auteurs ont insisté sur la difficulté de transférer les résultats d'un appareil à l'autre ^{[23] [33] [38] [42] [52]}. Il est également important de noter que les appareils n'ont pas systématiquement surestimé ou sous-estimé les deux spécimens de contrôle, ce qui permet

d'écarter dans la plupart des sites l'hypothèse d'un biais constant. Il n'est donc pas possible d'appliquer un facteur de correction pour comparer les résultats de deux analyseurs différents. Ce principe prend toute son importance lors du suivi d'une insuffisance rénale. Les mesures de créatininémie doivent impérativement se faire avec le même système analytique. Dans le cas contraire, toute variation des mesures ne serait pas interprétable.

C. Des procédures de dosage à améliorer

Lorsque les procédures correctes d'analyse sont respectées (manipulation, remise à température ambiante des réactifs, contrôle de qualité, entretien), l'écart des résultats à la cible a été inférieur. La généralisation de ces pratiques dans les cliniques est cependant jugée difficile voire impossible par certains vétérinaires. Néanmoins, le respect des procédures pour l'analyseur de biologie s'inscrit dans la démarche de qualité entreprise en principe à l'échelle des cliniques vétérinaires et ne devrait pas poser de difficultés. En revanche, le contrôle de qualité a besoin d'être « dédramatisé ». Il est perçu comme long, coûteux et en bilan inutile.

Cette étude a permis de montrer qu'au moins pour les valeurs moyennes de la créatininémie, des risques d'erreurs diagnostiques avaient été rencontrés. Ceci justifie pleinement la mise en place d'un contrôle de qualité, sans cependant vouloir l'appliquer selon les règles en rigueur en biologie humaine, qui sont inadaptées au faible nombre d'analyses effectuées dans les cliniques vétérinaires.

IV) Proposition pour la réalisation pratique du contrôle qualité

Les vétérinaires praticiens ne disposent pas de temps et de moyens suffisants pour réaliser des contrôles qualités aussi complets que dans les hôpitaux et autres grandes structures de biologie humaine réalisant des analyses de biochimie à grande échelle. Il est simplement nécessaire d'adapter les contrôles qualités à ces petites structures afin que les cliniques vétérinaires ne les négligent pas complètement.

A. Choix du spécimen de contrôle

Il est important de choisir avec soin le matériel de contrôle. En effet, le succès des procédures de contrôle dépend de sa qualité ^[68].

Deux solutions sont possibles :

- Soit le vétérinaire n'a pas besoin de comparer ses résultats avec l'extérieur. Il peut alors utiliser un pool de plasma réparti en aliquotes conservées à -18°C . Seule la précision de la technique de mesure est alors contrôlée.
- Soit le vétérinaire désire comparer ses résultats à ceux issus de la littérature ou à ceux de ses confrères. Il doit alors se procurer un spécimen de contrôle du commerce afin de contrôler l'exactitude et la précision de sa technique de mesure.

Les solutions de contrôle sont habituellement disponibles dans le commerce sous forme congelée ou lyophilisée et sont conditionnées en petits flacons. Elles doivent impérativement être reconstituées avec précision afin de limiter la variabilité de flacon à flacon de solution de contrôle.

Idéalement, le spécimen de contrôle devrait avoir la même matrice que les spécimens habituellement testés afin qu'il se comporte de la même façon ^[11]. Ainsi, il est judicieux d'utiliser du sang total pour les appareils fonctionnant sur sang total (Réflotron, VetScan, Spotchem) et de choisir un sérum pour les analyseurs fonctionnant avec du sérum ou du plasma (Vettest, Ektachem). Mais comme le sang total se conserve très mal, pour des raisons pratiques, il est préférable pour les vétérinaires d'utiliser du sérum.

Le choix de la concentration en analyte du spécimen de contrôle est complexe et doit correspondre aux besoins médicaux ^[68]. Pour une clinique vétérinaire, c'est la valeur haute de l'intervalle de référence qui est la plus intéressante. Elle permet d'estimer l'erreur analytique au seuil critique de la technique.

Le choix du matériel de contrôle approprié requiert l'étude de nombreux facteurs. Ceci devient d'autant plus compliqué pour les analyseurs dosant plusieurs constituants comme c'est le cas dans les cliniques vétérinaires. Les laboratoires commercialisant les appareils de biochimie proposent pour la plupart des spécimens de contrôle adaptés à leurs machines multiparamétriques, simplifiant ainsi les procédures. Ils ont été préalablement dosés et sont fournis avec les moyennes et les gammes de valeurs attendues. Ils sont généralement plus onéreux mais permettent aux petites structures de faciliter la mise en place d'un contrôle qualité.

B. Déterminer une gamme de valeurs acceptables

La solution la plus simple pour contrôler le système analytique est de se fixer une valeur haute et une valeur basse à ne pas dépasser (en général $m \pm 2SD$). La technique de mesure présente alors une anomalie lorsqu'une mesure de contrôle n'est pas comprise dans ces gammes de valeurs ^[58].

La plupart des spécimens de contrôles utilisés dans les cliniques vétérinaires est fourni avec des feuilles d'analyses spécifiant la gamme de valeurs acceptables. La moyenne des dosages du spécimen de contrôle nous renseigne sur la tendance centrale de la distribution attendue si les performances de la méthode restent stables.

Une modification de l'exactitude, entraînerait un changement de la moyenne des valeurs de contrôle et un déplacement de la distribution des dosages [65].

Les valeurs indiquées sur les feuilles d'analyses fournies décrivent les performances observées par une technique spécifique dans différents laboratoires, ce qui implique que les valeurs proposées incluent les variations se produisant entre laboratoires. Les limites fournies sont donc un peu trop larges et la clinique risque de ne pas être capable de détecter certaines anomalies [65].

C. Se fixer des règles de contrôle

Une deuxième solution plus complexe consiste à choisir des règles de contrôle multiples permettant d'affiner l'évaluation de la technique. Il s'agit d'utiliser une combinaison de critères de décision pour décider si la technique de mesure est satisfaisante ou non [63].

- règle de contrôle 1_{3S} : valeur hors de l'intervalle $[m \pm 3SD]$
- règle de contrôle 1_{2S} : valeur hors de l'intervalle $[m \pm 2SD]$. Amène l'utilisateur à inspecter avec attention les règles suivantes.
- règle de contrôle 2_{2S} : deux mesures consécutives dépassent $m + 2SD$ ou se situent en dessous de $m - 2SD$.
- règle de contrôle R_{4S} : une mesure excède $m + 2SD$ et une autre $m - 2SD$.
- règle de contrôle 4_{1S} : 4 mesures consécutives toutes supérieures ou inférieures à $[m \pm 1SD]$
- règle de contrôle 10_X : 10 mesures de contrôle consécutives du même côté de la moyenne. Des variantes comme 8_X , 12_X peuvent être utilisées.

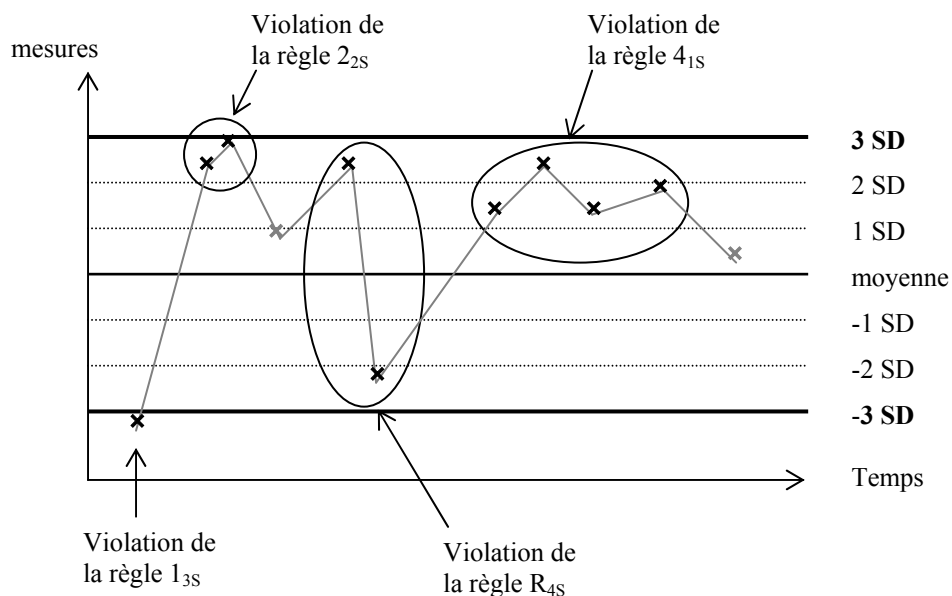


Figure 25 : Règles multiples de contrôle de Westgard [63].

CONCLUSION

Cette étude a montré que l'exactitude et la précision des mesures de la créatininémie réalisées dans les cliniques vétérinaires ne sont pas satisfaisantes malgré des résultats assez homogènes. Ceci est particulièrement vrai pour les valeurs proches du seuil de décision. De plus, les valeurs moyennes de la créatininémie ont été significativement différentes d'un modèle d'analyseur à l'autre et les appareils n'ont pas systématiquement surestimé ou sous-estimé les deux spécimens de contrôle, rendant les valeurs non transférables d'un appareil à l'autre.

Très peu de cliniques vétérinaires ont désigné une personne spécifique pour réaliser les mesures de biochimie, ce qui permettrait pourtant de limiter les erreurs de dosages causées par l'opérateur et de coordonner les contrôles de qualité/entretiens des analyseurs. Les contrôles de qualité sont peu et mal réalisés. Ils sont perçus comme longs, coûteux et inutiles par une majorité de vétérinaires. Les résultats des dosages de la créatinine ont été pourtant meilleurs dans les sites où un contrôle de qualité était effectué correctement. Il est donc nécessaire d'insister sur l'importance du contrôle de qualité dans les cliniques vétérinaires en proposant des procédures simplifiées, applicables dans les cliniques et garantes de l'efficacité des interprétations médicales ultérieures.

BIBLIOGRAPHIE

✓ Revues scientifiques :

1. AMBROSE R. T., KETCHUM D. F. et SMITH J. W.

Creatinine determined by « high-performance » liquid chromatography.

Clin. Chem., 1983, **29**, 256-259.

2. ANONYME.

Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie.

NF X 07-001, Paris : AFNOR, 1994.

3. ANONYME.

Métrologie et maintenance au laboratoire.

Charenton-le-pont : Bioformation, 77 p.

4. BALINT P. et VISY M.

« True creatinine » and « pseudocreatinine » in blood plasma of the dog.

Acta Physiol. Hung., 1965, **28**, 265-272.

5. BJERVE K. S., EGENSE J., LAMPINEN L.-M. et al.

Evaluation of several creatinine methods in search of a suitable secondary reference method : report from the subcommittee on reference method for creatinine, Nordic Society for Clinical Chemistry.

Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1988, **48**, 365-373.

6. BLIJENBERG B. G., BROUWER R. J., BAADENHUIJSEN H. et al.

Creatinine and surveys : an assessment.

Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1995, **33**, 855-858.

7. BLIJENBERG B. G., BROUWER H. J., KULLER T. J. et al.

Improvements in creatinine methodology : a critical assessment.

Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1994, **32**, 529-537.

8. BRAUN J.-P.

Principes de fonctionnement des analyseurs de biochimie utilisés dans les cliniques vétérinaires.

Prat. Med. Chir. Anim. Comp., 1999, **34**, 5-7.

9. BRAUN J.-P., LEFEBVRE H. P. et WATSON A. D. J.

Creatinine in the dog : a review.

Vet. Clin. Pathol., 2003, **32**, 162-179.

10. BRAUN J.-P. et LEFEBVRE H. P.

Early detection of renal disease in the canine patient.

Eur. J. Comp. Anim. Pract., 2005, **15**, 59-64.

11. BÜTTNER J., BORTH R., BROUGHTON P. M. G. et al.

Approved recommendation (1983) on quality control in clinical chemistry. Part 4. Internal quality control.

J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1983, **21**, 877-884.

12. CAPORAL-GAUTIER J., NIVET J.M., ALGRANTI P. et al.

Guide de validation analytique. Rapport d'une commission SFSTP. I. Méthodologie.

S.T.P. Pharma Pratiques, 1992, **2**, 205-226.

13. DIBARTOLA S. P.

Clinical approach and laboratory evaluation of renal disease.

In : ETTINGER S. J. et FELDMAN E. C.

Textbook of veterinary internal medicine, 5th Edition.

Philadelphia : W.B. Saunders Company, 2000, 234-238.

14. ELLIOT J., WATSON A. D. J et l'IRIS board.

Staging and management of chronic kidney disease.

In : BONAGURA J. D.

Current Veterinary Therapy XIII.

Philadelphia : W.B. Saunders Company, in press 2007.

15. ESPTEIN M. E., BARSANTI J. A., FINCO D. R. et al.

Postprandial changes in plasma urea nitrogen and plasma creatinine concentrations in dogs fed with commercial diets.

J. Amer. Anim. Hosp. Assn., 1984, **20**, 779-782.

16. EVANS G. O.

Postprandial changes in canine plasma creatinine.

J. Small Anim. Pract., 1987, **28**, 311-315.

17. FEEMAN III W. E., COUTO C. G. et GRAY T.L.

Serum creatinine concentrations in retired racing greyhounds.

Vet. Clin. Path., 2003, **32**, 40-42.

18. FINCO D. R. et DUNCAN J. R.

Evaluation of blood urea nitrogen and serum creatinine concentration as indicator of renal dysfunction : a study of 111 cases and a review of related literature.

J Am. Vet. Med. Ass., 1976, **168**, 593-601.

19. FINCO D. R.

Kidney Function.

In : KANEKO J. J., HARVEY J. W. et BRUSS M. L.

Clinical biochemistry of domestic animals, 5th Edition.

San Diego : Academic Press Inc, 1997, 441-484.

20. FONTAINE M., HAMELIN N. et PARADIS M.

Stabilité des paramètres sanguins en fonction du temps, des conditions d'entreposage et de transport chez le chien.

Méd. Vét. Quebec, **16**, 157-164.

21. FOSSATI P., PONTI M., PASSONI G. et al.

A step forward in enzymatic measurement of creatinine.

Clin. Chem., 1994, **40**, 130-137.

22. FOSSATI P., PRENCIPE L. et BERTI G.

Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymatic assau of uric acid in serum an urine.

Clin. Chem., 1980, **26**, 227-231.

23. HANSER A.-M., HYM B., MICHOTEY O. et al.

Comparaison des méthodes de dosage de la créatinine sérique.

Ann. Biol. Clin., 2001, **59**, 737-742.

24. HARRIS R. C. et LOWE J. A.

Absorption of creatine from meat or other dietary by dog.

Vet. Rec., 1995, **137**, p 595.

25. HILPPÖ M.

Some Haematological and clinical-chemical parameters of sight hounds (afghan hound, saluki, whippet).

Nord. Vet. Med., 1986, **38**, 148-155.

26. HOUOT O.

Créatinine.

In : SIEST G., HENNY J. et SCHIELE F.

Références en biologie clinique.

Paris : Elsevier, 1990, 233-245.

27. JACOBS R. M., LUMSDEN J. H., TAYLOR J. A. et al.

Effect of interferents on the kinetic Jaffé reaction and an enzymatic colorimetric test for serum creatinine concentration. Determination in cats, cows, dogs and horses.

Can. J. Vet. Res., 1991, **55**, 150-154.

28. JENSEN A. L. et AAES H.

Critical differences of clinical chemical parameters in blood from dogs.

Res. Vet. Sci., 1993, **54**, 10-14.

29. JONES R. G. et PAYNE R. B.

Clinical investigation and statistics in laboratory medicine.

Cambridge : ACB Venture Publications, 1997, 195 p.

30. JUNG K., WESSLAU C., PRIEM F. et al.

Specific creatinine determination in laboratory animals using the new enzymatic test kit "creatinine-PAP".

J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1987, **25**, 357-361.

31. KILLARD A. J. et SMYTH M. R.

Creatinine biosensors : principles and designs.

Trends Biotechnol., 2000, **18**, 433-437.

32. KOCH D. D. et PETERS T.

Selection and evaluation methods.

In : BURTIS C. A. et ASHWOOD E. R.

Tietz textbook of clinical chemistry, 3rd Edition.

Philadelphia : W. B. Saunders Company, 1999, 320-335.

33. LAWSON N., LANG T., BROUGHTON A. et al.

Creatinine assays : time for action ?

Ann. Clin. Biochem., 2002, **39**, 599-602.

34. LEFEBVRE H. P., WATSON A. D. J., TOUTAIN P. L. et al.

Absence de validation technique et biologique de la créatinine du chien : une des difficultés de l'interprétation.

Revue Méd. Vét., 1998, **149**, 7-14.

35. LOWE J. A., MURPHY M. et NASH V.

Changes in plasma and muscle creatine concentration after increases in supplementary dietary creatine in dogs.

J. Nutr., 1998, **128**, 2691S-2693S.

36. MEDAILLE C., TRUMEL C., CONCORDET D. et al.

Comparison of plasma/serum urea and creatinine concentrations in the dog : a 5-year retrospective study in a commercial veterinary clinical pathology laboratory.

J. Vet. Med., 2004, **51**, 119-123.

37. MILLER W. G., KAUFFMAN H. W.

Matrix effects and accuracy assessment in clinical chemistry.

Arch. Pathol. Lab. Med., 1993, **117**, 343-346.

38. MILLER G., MYERS G. L., ASHWOOD E. R. et al.

State of the art in accuracy and interlaboratory harmonization.

Arch. Pathol. Lab. Med., 2005, **129**, 297-304.

39. MYERS G. L., MILLER W. G., CORESH J. et al

Recommendations for improving serum creatinine measurement : a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program.

Clin. Chem., 2006, **51**, 5-18.

40. NARAYANAN S. et APPLETON H. D.

Créatinine : a review.

Clin. Chem., 1980, **26**, 1119-1126.

41. NEWMAN D. J. et PRICE C. P.

Renal function and nitrogen metabolites.

In : BURTIS C. A. et ASHWOOD E. R.

Tietz textbook of clinical chemistry, 3rd Edition.
Philadelphia : W. B. Saunders Company, 1999, 1204-1270.

42. PALM M. et LUNDBLAD A.

Creatinine concentration in plasma from dog, rat, and mouse: a comparison of 3 different methods.
Vet. Clin. Pathol., 2005, **34**, 232-236.

43. PASSING H. ET BABLOK W.

A new procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1983, **21**, 709-720.

44. PERRONE R. D., MADIAS N. E. et LEVEY A. S.

Serum creatinine as an index of renal function : new insights into old concepts.
Clin. Chem., 1992, **38**, 1933-1953.

45. ROSS L. A.

Assessment of renal function in the dog and cat.
In : KIRK R. W.
Current veterinary therapy IX, small animal practice.
Philadelphia : W. B. Saunders Company, 1986, 1103-1108.

46. ROSS J. W., MILLER W. G., MYERS G. L. et al.

The accuracy of laboratory measurements in clinical chemistry: a study of 11 routine chemistry analytes in the College of American Pathologists Chemistry Survey with fresh frozen serum, definitive methods, and reference methods.
Arch Pathol Lab Med, 1998, **122**, 587-608.

47. SKOOG D. A. et LEARY J. J.

High-performance liquid chromatography.
In : SKOOG D. A. et LEARY J. J.
Principles of instrumental analysis, 4th Edition.
Fort Worth : Saunders College Publishing, 1992, 628-669.

48. SPENCER K.

Analytical reviews in clinical biochemistry: the estimation of creatinine.

Ann. Clin. Biochem., 1986, **23**, 1-25.

49. STRIKE P. W.

Measurement in laboratory medicine : a primer on control and interprétation.

Oxford : Butterworth-Heinemann Ltd, 1996, 132 p.

50. THORESEN S. I., HAVRE G. N., MORBERG H. et al.

Effects of storage time on chemistry results from canine whole blood, heparinized whole blood, serum and heparinized plasma.

Vet. Clin. Path., 1992, **21**, 88-94.

51. TRUMEL C., DIQUELOU A., GERMAIN C. et al.

Comparaison of measurement of canine plasma creatinine, glucose, proteins, urea, alanine aminotransferase, and alkaline phosphate obtained with Spotchem SP 4430 and Vitros 250 analyzers.

Res. Vet. Sci., 2005, **79**, 183-189.

52. VASSAULT A., CHERRUAU B., LABBE D. et al.

Dosage de la créatinine sérique : résultats d'une étude multicentrique de 16 systèmes analytiques.

Ann. Biol. Clin., 1992, **50**, 81-95.

53. VASILIADES J.

Reaction of alkaline sodium picrate with creatinine : I. Kinetics and mechanism of formation of the mono-creatinine picric acid complex.

Clin. Chem., 1976, **22**, 1664-1671.

54. WATSON A. D. J. CHURCH D. B. et FAIRBURN A. J.

Postprandial changes in plasma urea and creatinine concentration in dog.

Amer. J. Vet. Res., 1981, **42**, 1878-1880.

55. WESTGARD J. O., SEEHAFFER J. J. et BARRY P. L.

Allowable imprecision for laboratory tests based on clinical and analytical test outcome criteria.

Clin. Chem., 1994, **40**, 1909-1914.

56. WUYTS B., BERNARD D., VAN DEN NOORTGATE N. et al.

Reevaluation of formulas for predicting creatinine clearance in adults and children, using compensated creatinine methods.

Clin. Chem., 2003, **49**, 1011-1014.

57. WYSS M. et KADDURAH-DAOUK R.

Creatinine and creatinine metabolism.

Physiol. Rev., 2000, **80**, 1107-1213.

✓ Pages internet :

58. BARRY P. L.

(Page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC, inc. lesson : QC – the Levey-Jennings chart. [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/lesson12.htm.

59. EHRMEYER J.

(Page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC, guest essay : quality by Jerry Ehrmeyer. [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/guest2.htm.

60. WESTGARD J. O.

(Page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC : myths of quality. [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/essay2.htm.

61. WESTGARD J. O.

(Page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC : putting quality in quality control. [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/essay3.htm.

62. WESTGARD J. O.

(Page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC : quality goals, requirements, specifications. [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/essay6.htm.

63. WESTGARD J. O.

(Page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC : multirule and “Westgard rules” : what are they ? [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/mltirule.htm.

64. WESTGARD J. O.

(Page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC, inc. lesson : the idea of statistical quality control. [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/lesson11.htm.

65. WESTGARD J. O.

(page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC, inc. lesson : the calculation. [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/lesson14.htm.

66. WESTGARD J. O.

(page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC, inc. lesson the multirule interpretation. [en ligne].
Adresse URL: www.westgard.com/lesson18.htm.

67. WESTGARD J. O.

(page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC, inc. lesson : the planning process. [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/lesson3.htm.

68. WESTGARD J. O.

(page consultée le 6 Avril 2006). Westgard QC, inc. lesson : the materials. [en ligne]. Adresse URL: www.westgard.com/lesson13.htm.

✓ Documentation technique :

69. Feuille technique des plaques CREA Vitros[®].
New-York : Ortho-Clinical Diagnostics, 1996.

70. Feuille technique des réactifs Spotchem[™]II Créatinine [Cre].
Florence : A.Menarini Diagnostics, 1998.

71. Manuel d'utilisation du Reflotron[®] plus.
Scil, 2000.

72. Manuel d'utilisation du Vetest[®] 8008.
Idexx, 1994.

73. Notice technique du sérum de contrôle Vettrol[®].
Westbrook : Laboratoire Idexx Inc., 1994.

74. VetScan[®] operator manual.
Union City : Abaxis Inc., 2001.

ANNEXE

Contact :
 Clinique :
 Adresse :
 Tel :

N° :

Date :
 Nombre de vétérinaires :
 Dominante/CES :

✓ L'appareil :

★ **Equipement utilisé :** VetScan/ScanVet Vetest Réflonet/Réflotron
 VetScan II Ektachem/Vitros Spotchem
 Autre :

★ **Date d'achat :**

Aspect extérieur : Bon Moyen Mauvais

★ **Contrôle qualité :** Oui Non
 si oui, date du dernier entretien : Fréquence :

★ **Entretien :** Oui Non
 si oui, date du dernier entretien : Fréquence :

Suite à : une panne une maintenance un mauvais résultat du contrôle qualité

✓ Les réactifs :

Conservation : T°C ambiante Réfrigérateur Congélateur

Cela correspond-il aux **conditions optimales** de conservation ? Oui Non

Sont-ils **périmés** ? Oui Non

Les réactifs sont-ils **manipulés correctement** ? Oui Non

Les réactifs sont-ils **ramenés à T°C ambiante** avant utilisation ? Oui Non

✓ Dosage :

★ **Qui fait l'analyse ?** Le même vétérinaire Le même ASV Un labo extérieur :
 Tous les vétérinaires Tous les ASV

Echantillon : Dépôt de la quantité préconisée ? Oui Non
 Ramené à T°C ambiante avant analyse ? Oui Non

★ **Animaux testés :** A jeun Ictériques Hémolysés
 Lipémiques

★ **Utilise l'intervalle de référence :** du constructeur Bibliographie F° du poids

Résultat : Ech1 : Ech2 : N° lot :

Annexe 1 : Fiche de renseignements remplie par chaque clinique vétérinaire participant à l'étude

TOULOUSE 2006

NOM : CABE

PRENOM : ELODIE

TITRE : Variabilité de la mesure de la créatininémie du chien dans les cliniques vétérinaires.

RESUME : La créatinine est l'un des analytes les plus fréquemment mesurés chez le chien. Pour vérifier si les résultats sont transférables d'une clinique vétérinaire à l'autre, la créatininémie de deux spécimens (cibles : 117 et 269 $\mu\text{mol/L}$) a été mesurée sur 104 analyseurs dont 35 faisaient l'objet d'un contrôle de qualité. Les valeurs extrêmes ont été respectivement 80-200 et 204-363 $\mu\text{mol/L}$, 95 % des résultats étant dans les intervalles [96-171] et [218-307] $\mu\text{mol/L}$. Les moyennes ont été respectivement 132 et 262 $\mu\text{mol/L}$. Les différences pouvaient en partie être expliquées par des équipements différents. Cela montre que la transférabilité des résultats est loin d'être assurée et qu'un contrôle de qualité basé sur des procédures simplifiées gagnerait à être mieux utilisé.

MOTS CLES : créatinine, plasma, chien, dosage, exactitude

TITLE : Variability of the measurement of canine plasma creatinine in veterinary clinics.

SUMMARY : Creatinine is one of the most frequently measured analyte in the dog. To investigate whether results are transferable from one veterinary practice to another, the plasma creatinine concentration of two specimens (targets : 117 and 269 $\mu\text{mol/L}$) has been measured with 104 analysers, in 35 of which quality control was regularly performed. The extreme values have been respectively 80-200 and 204-363 $\mu\text{mol/L}$, 95 % of the results being in the [96-171] and [218-307] $\mu\text{mol/L}$ intervals. The means have been 132 and 262 $\mu\text{mol/L}$ respectively. The differences could be partly explained by varying equipments. This shows that the transferability of the results is far from ensured and that a quality control based on simplified procedures would gain to be more widely used.

KEYWORDS : creatinine, plasma, dog, assay, accuracy