

## CONCEPT D'UNE MÉTHODE URINAIRE POUR LA SURVEILLANCE DES PATIENTS PCU

Benghezal H. Sadelaoud M

Laboratoire de Biologie Médicale Sadelaoud Batna Algérie

Email: hichem.benghezal@gmail.com

### Introduction

Une fois le diagnostic de la **phénylcétonurie (PCU, MIM 261 600)** posé la méthode de choix de surveillance des patients PCU est le dosage sanguin de la **phénylalanine (Phe)** (pour se maintenir dans les limites de sécurité 120–360  $\mu\text{M}$ : ACMGG) par fluorimétrie, par chromatographie d'échange ionique ou par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)

Ces méthodes sont:

- ✓ Couteuses
- ✓ Chronophages
- ✓ Complexes (expertise).
- ✓ Envahissante (prélèvement sanguin).

Il existe un grand besoin d'une **méthode simple, peu coûteuse et non invasive** pour surveiller indirectement les niveaux sériques afin de

- ✓ Faciliter la tâche des patients et les parents de patients.
- ✓ Surveiller les effets immédiats de l'alimentation.
- ✓ Contrôler plus étroitement les concentrations sériques.

### Objectif

Élaborer un nouvel **outil urinaire** basé sur méthode précédemment développée qui était historiquement utilisée pour le dépistage de la PCU (Asbjorn Foiling 1934). Cette méthode révisée est l'**optimisation quantitative de la méthode qualitative** de réaction des ions  $\text{Fe}^{3+}$  avec l'**acide phénylpyruvique (PPA)** : (sous-produit métabolique produit de la transamination de la Phe suit au défaut d'activité de la phénylalanine hydroxylase) **associé à une mauvaise observance du régime.**

### Méthodes

- ✓ Étude **cohorte prospective**.
- ✓ **119** échantillons de sang et d'urines
- ✓ **Âge** : 5.1 +/- 5 ans et **sexe-ratio M/F** : 1.7.
- ✓ **Dosage sanguin de la Phe et de la tyrosine (Tyr)** : Perkin Elmer.
- ✓ **Dosage de PPA** : voir Protocole
- ✓ **Dosage de la créatinine urinaire (Créa U)**: Cobas 8000 Roche
- ✓ **Calcul des ratios Phe/Tyr et PPA/Créa U**.
- ✓ **Logiciel SPSS V20 IBM statistics**

#### Étape1

- 1 ml : urines/ étalon/ blanc
- 250 microl ; Réactif ( $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ )
- (2 g/2 ml/1.4 g dans 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ )

#### Étape2

- Incubation 2min à 25 degrés celsius
- Centrifugation 3min
- 500 microl surnageant + 250 microl  $\text{HCl}$  (1M)

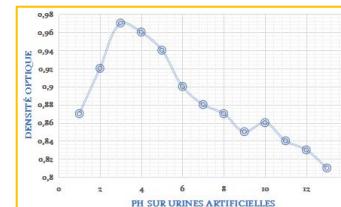
#### Étape3

- Ajouter 1 ml d' $\text{H}_2\text{O}$  et 100 micol  $\text{FeCl}_3$  (0.37 M)
- Incubation 2min exact
- Lecture à 650 nm

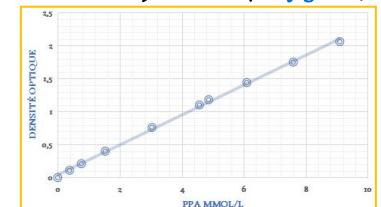
✓ Hydrochloric acid 37% - VWR BDH CHEMICALS - 310944000  
 ✓ Magnesium chloride: Sigma Aldrich - 310944000  
 ✓ Ammonium hydroxide solution: Sigma Aldrich - 22228 d A  
 ✓ Magnesium chloride hexahydrate: Honeywell Fluka - SZB06261H  
 ✓ Phenylpyruvic acid - Sigma Aldrich - B13997

### Résultats

- ✓ Sur urines artificielles et à une température de 25 ° c : le **ph optimal est de 3** (figure 1).
- ✓ Le domaine de linéarité de la méthode : **0 à 9.1 mmol/l** (figure 2)

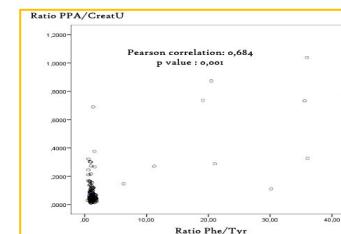


(Figure 1)

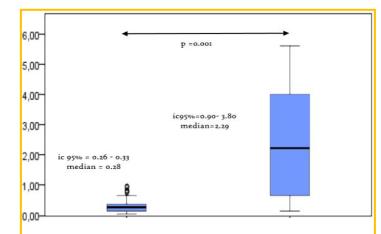


(Figure 2)

- ✓ Une **corrélation statistiquement significative** est observée entre
  - **Phe et PPA** →  $r=0,67$   $p=0,001$ .
  - **Ratio Phe/Tyr et Ratio PPA/CreatU** →  $r=0,68$   $p=0,001$ . (figure 3).
- ✓ Le **test ANOVA** indique que le **PPA est significativement élevé** pour des concentrations de **Phe  $\geq 360 \mu\text{mol/l}$**  (figure 4).



(Figure 3)



(Figure 4)

### Discussion

Les concentrations urinaires de la **PPA** sont très faibles chez le sujet sain. Des niveaux élevés sont trouvés dans l'urine des personnes atteintes de PCU. Son élimination se fait par sécrétion active dans la lumière du tubule rénal au niveau de la région proximale.

Cette formulation a été choisie pour ses réactifs assez **simples à acquérir**, ses résultats **rapides** et sa lecture **facile**.

La **réaction  $\text{FeCl}_3$**  avec le **PPA** a un caractère **transitoire**. En effet la couleur s'estompe à environ 3 min d'où la nécessité de lire à 2min. Toutes les **autres tentatives** pour stabiliser ce complexe **ont échoué**. En effet, l'utilisation:

- ✓ De l'alun ferrique *Polonowski (1947)*
- ✓ Du citrate ferrique *Kropp et Lang (1955)*
- ✓ Une température faible *Berry et Woolf (1952)*

Ne semble pas stabiliser la couleur.

À l'exception de cette contrainte, cette méthode est assez **simple** pour qu'un profane puisse la réaliser sans nécessité de moyen lourd, elle est **non invasive** et susceptible d'entraîner une **plus grande observance** du patient. un respect strict des **conditions analytiques**; des **optimisations** et des **essais supplémentaires** à grand échelle seront nécessaires.