

Dosage des chlorures sudoraux par la méthode argentimétrique de Mohr. Optimisation et validation analytique.

N.LAOUFI ^(1,2); C.NEHAL ⁽²⁾; D.SADOUKI ^(1,2)

⁽¹⁾ Hôpital Mohamed Essegir NEKACHE ⁽²⁾ Faculté de Médecine d'Alger

INTRODUCTION

Le dosage des chlorures dans la sueur est un test de biologie médical essentiel dans le diagnostic de la mucoviscidose MV,

Ce travail présente une technique de dosage des chlorures dans la sueur, basée sur la méthode de **Mohr**. Cette technique pourrait être une alternative à la technique mercurimétrique de *Schales* utilisant le nitrate de mercure toxique et polluant.

QUELQUES CHIFFRES

	Europe	Algérie
Incidence	1/2500 ^(1,2)	Non renseignée
Prise en charge	Dépistage néonatal/ diagnostic ⁽²⁾	Absence
Esperance de vie	40 ans ⁽²⁾	4 ans ⁽³⁾

Tableau 1: Apport du dépistage/diagnostic précoce à l'espérance de vie des patients.

DIAGNOSTIC DE LA MUCOVISCIDOSE

La Haute autorité de santé **HAS** préconise le dosage des chlorures sudoraux via le test de la sueur devant:



Figure 1: Place du test de la sueur dans le diagnostic de MV selon la HAS ⁽⁴⁾

Concentration Cl ⁻ (mM)	Diagnostic
< 40	Négatif
[40 - 60]	Équivoque
> 60	Positif

Tableau 2: interprétation des taux de chlorures sudoraux ⁽⁵⁾

DEVELOPPEMENT DE METHODE

MATERIEL ET REACTIFS

- Papier buvard Ø 10cm.
- Boîte de Petri.
- Balance de précision.
- Burette en verre (1 ± 0,006)mL
- Pipettes automatiques (50, 100, 200) µL
- Solution aqueuse AgNO₃ à 0,01M
- Solution de KCl à 0,01M; C1:25mM; C2:45mM; C3:65mM.
- Solution de K₂CrO₄ à 1%*m/V*

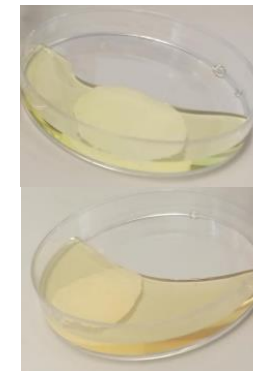
METHODE DE MOHR POUR LE TEST DE LA SUEUR



Etapes préalables au dosage:

- Étalonner AgNO₃,
- Réaliser un blanc réactif= V_{blanc}

PROTOCOLE OPERATOIRE



- Peser le dispositif (petri+buvarde)= P1
- Imprégné de contrôle ou de sueur =P2
- Introduire 200µl de K₂CrO₄.
- Dissoudre avec 10ml H₂O distillée.
- Titration à l'AgNO₃ étalonnée.
- Virage vers l'orange.
- Noter chute de burette V_{essai}
- Calculer.

$$[\text{Cl}^-] = \frac{[\text{AgNO}_3] \cdot (V_{\text{essai}} - V_{\text{blanc}})}{(P2 - P1) \cdot 10^{-3}}$$

RESULTATS

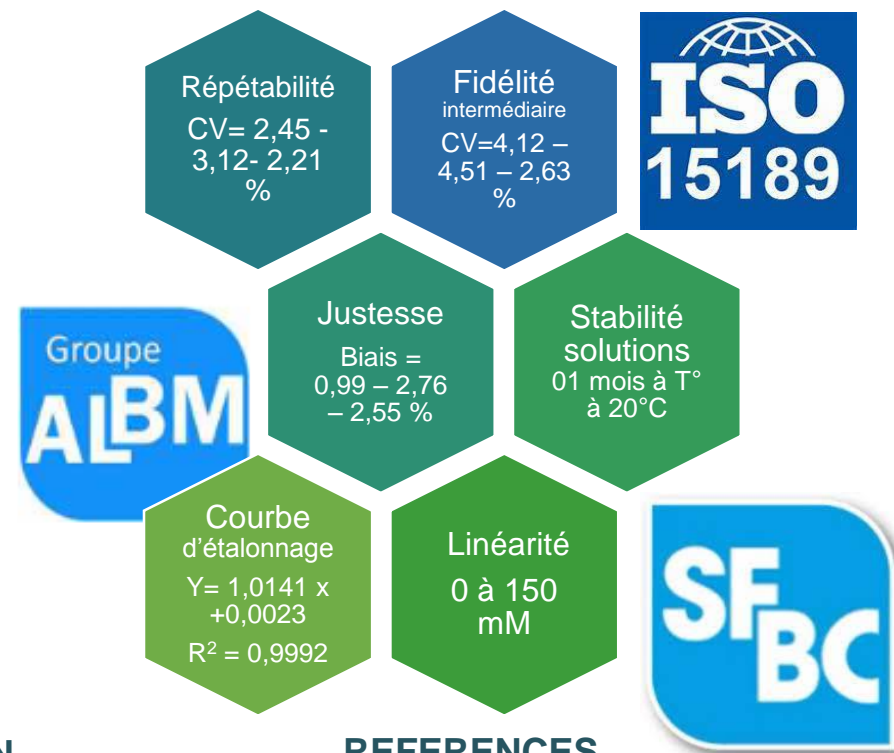
OPTIMISATION Ecart max 5%

- Solutions de contrôle de KCl (C1:25mM; C2:45mM; C3:65mM).
- Matrice de travail : H₂O => Nécessité d'un blanc réactif
- Quantité minimale de sueur récoltée par stimulation thermique => 150 mg
- Volume de solvant de dissolution (H₂O) => 10mL
- Temps de dissolution => 02 minutes
- Volume de K₂CrO₄ à introduire => 200µL
- Le dosage des Cl⁻ doit se faire dans les 5 minutes suivant la récupération du buvard imprégné.

COMPARAISON MOHR Vs SHALES

	25mM (n=25)	45mM (n=25)	65mM (n=25)
Moyenne des différences	0,53	0,24	0,26
Écart-type	1,37	1,73	2,28
Ecart réduit Z	1,934	0,694	0,570
Student (0,05; n-1)	2,0639	2,0639	2,0639
	comparable	comparable	comparable

VALIDATION DE LA METHODE



CONCLUSION

La méthode développée, optimisée et validée est simple et rapide à réaliser. Elle peut être utilisée pour le dosage des chlorures sudoraux après stimulation thermique de la sueur. La méthode est fiable et juste entre 0 et 150mM. Les solutions de réactifs (AgNO₃, KCl et K₂CrO₄) sont stables (1 mois) non toxiques et non polluants. Cette nouvelle méthode est mise à disposition des centres spécialisés Algériens pour une meilleures prise en charge des patients.

REFERENCES

1. Esther, C. R.; Muhlebach, M. S.; Ehre, C.; Hill, D. B.; Wolfgang, M. C.; Kesimer, M.; Ramsey, K. A.; Markovetz, M. R.; Garbarine, I. C.; Forest, M. G., Mucus accumulation in the lungs precedes structural changes and infection in children with cystic fibrosis. Science translational medicine 2019, 11 (486).
2. Boukari, R., Cystic fibrosis: course of management in Algeria. Archives de pediatrie: organe officiel de la Societe francaise de pediatrie 2015, 22 (5 Suppl 1), 5-6
3. Physiopathology and the latest pharmacological treatments. 2020, 162, 105267. 11. Mirtajani, S. B.; Farnia, P.; Hassanzad, M.; Ghanavi, J.; Farnia, P.; Velayati, A. A. J. B.; Journal, B. R., Geographical distribution of cystic fibrosis; The past 70 years of data analysis. 2017, 1 (2), 105.
4. Bréchet, P. P.; Mouawia, H.; Saker, A. J. A. d. p., Diagnostic prénatal non invasif de la mucoviscidose. 2011, 18 (1), 111-118.
5. Farrell, P. M.; White, T. B.; Derichs, N.; Castellani, C.; Rosenstein, B. J. J. T. J. o. p., Cystic fibrosis diagnostic challenges over 4 decades: historical perspectives and lessons learned. 2017, 181, S16-S26.