

ELEMENTS DE CORRECTION : DETERMINATION SPECTROPHOTOMETRIQUE DE LA PHOSPHATURIE PAR METHODE UV

1-REALISATION DE LA GAMME ETALON :

Justification de la dilution de la solution étalon :

15 mmol → 1 L
60 nmol → x mL

Soit $x = 4 \mu\text{L}$ ce volume est trop faible pour être pipeté avec le matériel mis à disposition.

Donc une dilution au $1/50^{\text{e}}$ est réalisée (1mL dans 50 mL)

Soit la nouvelle concentration de la solution $SF_{\text{KH}_2\text{PO}_4} = 0,3 \text{ mmol/L}$

Donc on peut justifier le tableau suivant :

CUVES	0	1	2	3	4
Solution étalon diluée 1/50 (μL)	0	50	100	150	200
Eau distillée (μL)	200	150	100	50	0
Réactif molybdique (mL)	1	1	1	1	1
Homogénéiser, attendre 5 minutes					
Quantité de phosphore nmoles/tube	0	15	30	45	60

Pour la cuve 1 :

La concentration de la solution est de $0,3 \text{ mmol} \rightarrow 1 \text{ L}$
Donc pour pipeter 15 nmol / CUVE₁ : $15 \text{ nmol} \rightarrow x \text{ mL}$

Soit $x = 50 \mu\text{L}$ Ce volume est pipetable avec une P 200 par exemple

Le volume de travail est de 200 μL, pour la cuve 1 il faudra donc rajouter 150 μL d'eau Δ

RQ : Les calculs sont identiques pour les autres cuves. La cuve 0 ne présente pas de solution de KH₂PO₄, elle va servir de blanc réactif.

La solution de contrôle n'était pas à diluée et devait être traitée dans les memes conditions que la gamme.

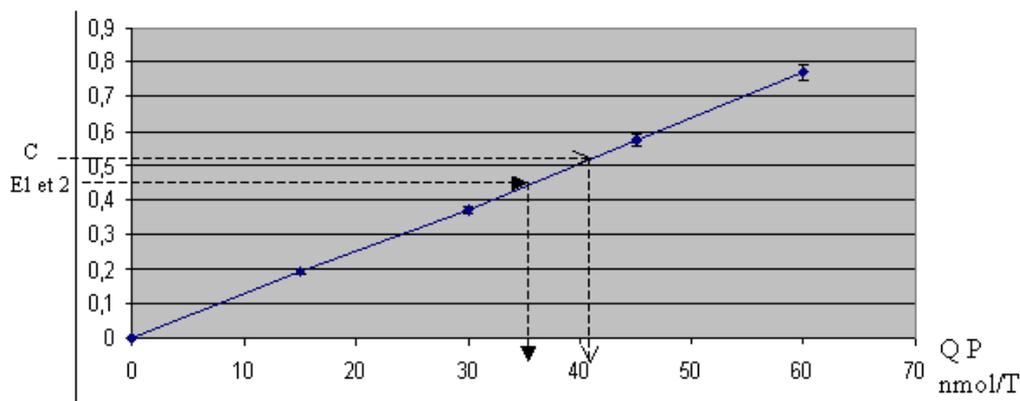
L'Urine devait être diluée au $1/100^{\text{e}}$ car elle était trop concentrée par rapport à la gamme qui s'étend de 15 à 60 nmol/T (l'utilisation de gant était également attendue)

2- ANALYSE DE RESULTATS

1- Résultat spectrophotométrique :

Cuve	0	1	2	3	4	E1	E2	C
Absorbance	0	0,191	0,371	0,576	0,77	0,468	0,474	0,525
Q P _{nmol/T}	0	15	30	45	60			

2- Réalisation du graphique : A (340nm) = f (Q_P)



3- Modélisation graphique :

Cuves	Valeur modélisée (nmol/cuve) donc pour 200 µL
E1	36.73
E	37.2
C	41.17

4- Calculs

a. Validation du contrôle

$$\begin{array}{l} 41,17 \cdot 10^{-9} \text{ mol} \rightarrow 200 \cdot 10^{-6} \text{ L} \\ x \text{ mol} \quad \quad \quad \rightarrow 1 \text{ L} \end{array}$$

$$x = (41,17 \cdot 10^{-9} \times 1) / 200 \cdot 10^{-6} = 205,85 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \Rightarrow C_{p(\text{contrôle})} = \mathbf{205,85 \mu\text{mol/L}}$$

Validation avec le logigramme : Tout est exprimé en µmol/L car S_R et C_(contrôle) sont en µmol/L !

$$\frac{|(x-a)|}{(sR(x))} \leq 2$$

$(|205.85 - 200| / 3) < 2$ **DONC** la solution de contrôle est validée et nous permet de valider la méthode de mesurage

Rq : S_{R(x)} est l'écart type de reproductibilité pour le composé « x » et non pas « S_R multiplié par x » dans la formule comme je l'ai trouvé dans certains rapport.

b. Validation des essais et calcul de la phosphaturie

Cuves	nmol/cuve	mmol/L dilué
E1	36.73	0.18365
E	37.2	0.186

$$\begin{array}{l} 36.73 \cdot 10^{-9} \text{ mol} \rightarrow 200 \cdot 10^{-6} \text{ L} \\ x1 \text{ mol} \quad \quad \quad \rightarrow 1 \text{ L} \end{array}$$

$$\rightarrow x1 = (36.73 \cdot 10^{-9} \times 1) / 200 \cdot 10^{-6} = 0.184 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \Rightarrow C_{p(E1)} = \mathbf{0.18365 \text{ mmol/L}}$$

$$\rightarrow x2 = (37.2 \cdot 10^{-9} \times 1) / 200 \cdot 10^{-6} = 0.184 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \Rightarrow C_{p(E2)} = \mathbf{0.186 \text{ mmol/L}}$$

$|0.18365 - 0.186| < 2.8 \times 0,38$ DONC je peux valider la moyenne

Or, l'urine était diluée au $1/100^e$ et $U_c = 1 \text{ mmol/L} \rightarrow C_P (\text{urine}) = (0.18365 + 0.186) \times 100$

Soit la phosphaturie $C_P (\text{urine}) = \mathbf{18,5 \text{ mmol/L} \pm 2 \text{ mmol/L}}$

5- Conclusion par rapport au contexte clinique détermination de la phosphaturèse

Calcul de la phosphaturèse à partir de la Diurèse*

*débit journalier de l'urine, il est compris entre $0.8 - 1.5 \text{ L} / 24 \text{ h}$.

$$\begin{array}{l} 18,5 \text{ mmol} \rightarrow 1 \text{ L} \\ x \text{ mmol} \rightarrow 1.5 \text{ L (24 h)} \end{array}$$

$$x = 27,8 \text{ mmol}$$

DONC : $27,8 \text{ mmol} < 30 \text{ mmol}$ pour 24 h. La phosphaturèse de M. X est normale.