

# Réactif du Phosphore Inorganique

## Méthode Directe aux UV sans Réduction

### CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	: Jusqu'à péremption à 2-25°C
Limites de linéarité	: 0,0 - 5,00 mmol/L (0 - 15,0 mg/dL)
Specimen Type	: Sérum, plasma ou urine
Méthode	: Point final
Préparation du réactif	: Fourni prêt à l'emploi.

IVD

#### UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro du phosphore inorganique dans le sérum, le plasma ou l'urine humains.

#### INTÉRÊT CLINIQUE

Plus de 80% du phosphore du corps est présent dans le squelette comme phosphate de calcium. Le reste se trouve dans les cellules sous la forme de phosphates organiques tels que les phospholipides, les acides nucléiques et ATP ou hors des cellules comme phosphore inorganique.

Il existe généralement une relation réciproque entre le calcium du sérum et les niveaux de phosphate inorganique. Les niveaux élevés de phosphore dans le sérum se voient lors de maladies rénales, d'hypo ou parathyroïdisme et de prise excessive de vitamine D. Les niveaux diminuent en cas de rachitisme, d'ostéomalacie (rachitisme de l'adulte), d'hyperparathyroïdisme et de coma diabétique.<sup>1</sup>

#### PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La plupart des méthodes sur le phosphate inorganique du sérum impliquent la formation de phosphomolybdate et une réduction postérieure en bleu de molybdène. Ces méthodes présentent couramment une formation variable de la couleur et une instabilité du réactif.<sup>2,3</sup>

La procédure est basée sur la méthode de Daly et Ertingshausen<sup>4</sup> telle que modifiée par Wang, et al.<sup>5</sup> La formation de phosphomolybdate non réduit se mesure à 340 nm, elle est directement proportionnelle à la quantité de phosphate inorganique présent.

#### COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs	Concentration
Molybdate d'ammonium	0,8 mmol/L
Acide sulfurique	430 mmol/L
Chlorure de sodium	77 mmol/L
pH < 1,0 at 20°C.	

**PRECAUTIONS:** Ne pas ingérer. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Afin d'éliminer toutes traces de réactif, rincer avec de grandes quantités d'eau. La fiche de sécurité du Réactif du Phosphore Inorganique contient des informations plus détaillées.

R38	Irritant pour la peau.
R41	Risque de lésions oculaires graves.
S24/25	Éviter le contact avec la peau et les yeux.

#### PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le réactif est fourni prêt à l'emploi.

#### STABILITÉ ET CONSERVATION

##### Avant utilisation :

Stocké entre 2 et 25 °C et protégé de la lumière, le réactif est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon et l'étiquette de la boîte du kit.

##### Une fois le réactif ouvert :

Stocké fermé entre 2 et 25 °C et protégé de la lumière, le réactif est stable jusqu'à sa date d'expiration.

##### Indications de la détérioration du réactif :

- Turbidité,
- Absorbance du réactif < 0,50 AU à 340 nm ; et/ou
- Impossibilité de retrouver les valeurs de contrôle dans la plage affectée.

#### PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS<sup>2</sup>

**Sérum :** Utiliser un sérum non hémolysé.

**Plasma :** Utiliser de l'héparine.

**Urine :** L'analyse précise du phosphate de l'urine ne peut se faire que si tout le phosphate précipité est dissous avant le test. Les échantillons d'urine ayant vingt-quatre heures doivent être acidifiés avec 15 mL de HCL concentré. Les échantillons non acidifiés réfrigérés doivent être acidifiés et/ou chauffés à 56°C pendant 15 minutes pour dissoudre tout précipité formé. (Les échantillons

### SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

<b>EC</b> <b>REP</b>	Représentant Autorisé		Limites de température
<b>IVD</b>	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
<b>LOT</b>	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
<b>REF</b>	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		Xi - Irritant

acidifiés ne conviennent pas pour l'évaluation de l'urate ou de la créatinine.) Diluer les échantillons d'urine à 1 pour 20 avec de l'eau distillée ou déminéralisée avant analyse.

**Stockage :** Les échantillons de sérum ou de plasma sont stables à la température ambiante (18-25°C) ou à 4°C pendant 7 jours ou au moins 6 mois gelés<sup>1</sup>. Les échantillons d'urine sont stables 7 jours stockés à 4°C.<sup>6</sup>

#### MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Si nécessaire, des pipettes pour distribuer précisément les volumes mesurés.
- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer l'absorbance entre 340nm.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Matériau de contrôle de dosage normal et anormal.
- Étalon ou standard de phosphore inorganique aqueux adéquat.

#### PROCÉDURE DE DOSAGE

Le paramétrage suivant est recommandé. Des applications selon les analyseurs utilisés sont disponibles sur demande auprès de notre Service Applications.

#### PARAMÉTRAGE DU SYSTÈME

Température	30°C / 37°C
Longueur d'onde principale	340 nm
Longueur d'onde secondaire	380 nm
Type de dosage	Point final
Sens	Augmentation
Échantillon : Taux de réactif	1 : 50
p. ex. : Vol. échantillon	3 µL
Vol. réactif	150 µL
Temps d'incubation	6 minutes
Limites du réactif blanc	Basse 0,0 AU
(340 nm, chemin lumineux 1cm)	Haute 0,5 AU
Linéarité	0,0-5,00 mmol/L (0-15,0 mg/dL)
Sensibilité Analytique	0,357 ΔA par mmol/L
(340nm, chemin lumineux 1cm)	0,115 ΔA par mg/dL

#### CALCULS

Les résultats sont calculés directement par l'analyseur selon la formule suivante :

$$\text{Phosphore inorganique} = \frac{\text{Absorbance de l'inconnu}}{\text{Absorbance de l'étalon}} \times \text{Valeur de l'étalon}$$

##### Exemple :

Absorbance de l'étalon	= 0,496
Absorbance de l'inconnu	= 0,387
Valeur de l'étalon	= 1,39 mmol/L (4,31 mg/dL)

$$\text{Phosphore inorganique} = \frac{0,387}{0,496} \times 1,39 = 1,08 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Phosphore inorganique} = \frac{0,387}{0,496} \times 4,31 = 3,36 \text{ mg/dL}$$

Pour les spécimens d'urine, les résultats doivent être multipliés par le facteur de dilution et les collectes de 24 heures par le volume en litres.

$$\text{Phosphore d'urine (mmol/24 heures)} = \frac{\text{Résultat du phosphore (mmol/L)}}{\text{Facteur}} \times \text{Volume (litres)}$$

##### Exemple :

Phosphore	= 1,55 mmol/L (4,81 mg/dL)
Dilution	= 1 : 20
Vol d'urine	= 1,25 L (12,5 dL)

Phosphore de l'urine = 1,55 x 20 x 1,25 = 38,8 mmol/24 heures  
Phosphore de l'urine = 4,81 x 20 x 12,5 = 1200,3 mg/24 heures

#### REMARQUES

1. Les volumes de réactif et d'échantillon peuvent être modifiés en proportion pour s'adapter aux prescriptions de divers spectrophotomètres.
2. Les spécimens présentant une valeur de phosphore inorganique supérieure à 5,00 mmol/L (15,0 mg/dL) doivent être dilués et dosés à nouveau. Multiplier les résultats par le facteur de dilution.
3. La couleur développée est stable pendant au moins une heure.
4. Conversions des unités : mmol/L x 3,1 = mg/dL.

#### CALIBRAGE

Le calibrage est obligatoire. Une solution aqueuse étalon ou un étalon à base de sérum, avec une valeur affectée traçable par rapport à un standard primaire (p. ex. NIST ou IRMM) sont recommandés. Pour connaître la fréquence de calibrage des analyseurs de biochimie, se référer aux spécifications de la notice de fabrication.

Cependant, la stabilité du calibrage est liée aux performances de l'analyseur ainsi qu'à l'utilisation des réactifs conservés dans les conditions décrites dans le paragraphe Stabilité et conservation de cette notice. Un nouveau calibrage est recommandé, dans les situations suivantes :

- Changement de numéro du lot
- Maintenance préventive ou remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.
- Les contrôles ne sortent pas à l'intérieur de leur fourchette de tolérance, et l'addition d'un nouveau flacon de contrôle ne peut remédier à ce problème.

#### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Pour garantir un contrôle adéquat de la qualité, des contrôles normaux et exceptionnels doivent être pratiqués sur des échantillons inconnus :

- Au moins une fois par jour ou conformément aux instructions du laboratoire.
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisé.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.
- Avec chaque calibrage.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes :

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats sont encore , en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats sont toujours en dehors de leur fourchette de tolérance, recalibrer à l'aide d'un calibrateur frais, et répéter le test.
- Si les mêmes problèmes de ciblage persistent, effectuer un calibrage avec du réactif fraîchement préparé, puis répéter le test.
- Si malgré ces opérations les résultats de contrôle restent en dehors de leur fourchette de tolérance, contactez notre service

#### LIMITES DE LA PROCEDURE

1. Des études ont été effectuées sur le niveau d'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie. Les résultats suivants ont été obtenus :  
**Hémoglobine** : aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 160 mg/dL.  
**Bilirubine** : Aucune interférence avec la bilirubine jusqu'à 340 µmol/L (20 mg/dL).  
**Lipémie** : aucune interférence avec la lipémie, mesurée sous la forme de triglycérides, jusqu'à 5,1 mmol/L (450 mg/dL).
2. La publication de Young examine plus en détail les facteurs affectant le dosage du glucose.<sup>7</sup>

#### VALEURS ATTENDUES<sup>8</sup>

Sérum: 0,8 - 1,5 mmol/L (2,5 - 4,5 mg/dL)  
Urine à 24 heures : 13 - 42 mmol/24 hr (0,4 - 1,3 g/24 hr)

Les valeurs indiquées ne sont qu'indicatives. Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier sa plage ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il sert.<sup>9</sup>

#### MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le Réactif du Phosphore Inorganique sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs devront établir les caractéristiques de la performance du produit sur leur propre analyseur.

#### IMPRÉCISION

L'imprécision a été évaluée au cours d'une période de 20 jours et en utilisant deux niveaux de contrôle du commerce et la procédure NCCLS EP5-T suivante.<sup>10</sup>

	Niveau I	Niveau II
Nombre de mesures	80	80
Moyenne (mmol/L / mg/dL)	0,70 / 2,17	1,04 / 3,22
<b>Pendant l'opération:</b> SD (mmol/L / mg/dL)	0,05 / 0,16	0,06 / 0,19
CV (%)	2,3	1,8
<b>Total:</b> SD (mmol/L / mg/dL)	0,13 / 0,40	0,24 / 0,74
CV (%)	6,2	7,5

#### COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un réactif du phosphore inorganique du commerce similaire comme référence. Des échantillons de plasma (héparine), de l'urine et de sérum ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

#### Sérum/Plasma :

Nombre d'échantillons en double	40
Plage de mesures des échantillons	0,66 - 2,56 mmol/L (2,05-7,95 mg/dL)
Moyenne des mesures (référence)	1,23 mmol/L (3,8 mg/dL)
Moyenne des résultats du phosphore inorganique	1,19 mmol/L (3,7 mg/dL)
Pente	0,91
Coordonnées à l'origine	0,07 mmol/L (0,2 mg/dL)
Coefficient de Corrélation	1,00

#### Urine :

Nombre d'échantillons en double	44
Plage de mesures des échantillons	2,9-62,6 mmol/L (9,0-194,0 mg/dL)
Pente	1,008
Coordonnées à l'origine	0,32 mmol/L (1,0 mg/dL)
Coefficient de Corrélation	0,9995

#### LINÉARITÉ

Utilisé selon les prescriptions, le dosage est linéaire entre 0 et 5,00 mmol/L (0 - 15,0 mg/dL).

#### SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

S'il est effectué selon les recommandations, la sensibilité du présent dosage est de 0,357 ΔAbs par mmol/L ou 0,115 ΔAbs par mg/dL (trajet optique de 1 cm, 340 nm).

#### RÉFÉRENCES

1. Tietz N. W. (Ed), Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1986; p.1351-1354.
2. Fiske C.H. and Subbarow U., J. Biol Chem, 66, 375 (1925).
3. Taussky H.H. and Schoor E.A., J Bio Chem, 202, 675 (1953).
4. Daly J.A. and Ertingshausen G., Clin Chem, 18, 263 (1972).
5. Wang J., Chen C.C., Osaki S., Clin Chem, 29 1255 (1983).
6. Shephard MD, Mezzachi RD. Clin Biochem Revs 1983; 4:61-7.
7. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990; 3:265-270.
8. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis (4th Ed.) Burtis, Ashwood & Bruns (Eds), Elsevier Saunders, 2005; 2290.
9. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.



Fisher Diagnostics  
a division of Fisher Scientific Company, LLC  
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.  
Middletown, VA 22645-1905 USA  
Phone: 800-528-0494  
540-869-3200  
Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.  
Arundel House  
1 Liverpool Gardens  
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



840412 (R1)

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. iLab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

REF	Information Commandes	
	No de Catalogue	Configuration
	TR30021/1610-250	2 x 125 mL
	TR30026/1610-500	2 x 250 mL
	TR30098	2 x 500 mL
	1610-400H	4 x 100 mL (Hitachi)
	TL30001	8 x 100 mL (iLab 600)
	TY30001	4 x 50 mL (Hitachi)