



REMERCIEMENTS

A MES MAITRES

MONSIEUR LE PROFESSEUR

TARIK SQALLI HOUSSAINI,

Madame le professeur

NADIA KABBALI,

Mesdames les Professeurs

BASMAT AMAL CHOUHANI

et

GHITA EL BERDAI

Vous avez guidé mes pas.

*Vous m'avez prodigué, avec patience et indulgence, vos précieux
conseils.*

Veillez croire en ma profonde gratitude et en tout mon respect.

PLAN

I-	INTRODUCTION	5
II-	PHYSIOLOGIE PHOSPHO CALCIQUE.....	5
1.	physiologie du phosphate	5
a)	La distribution du phosphate dans l'organisme :	5
b)	Le bilan du phosphate	6
2.	physiologie du calcium	10
a)	Propriétés homéostatiques	10
b)	Répartition du calcium dans l'organisme	11
c)	Cheminement du calcium.....	11
d)	Régulation du calcium	11
e)	Absorption.....	13
f)	Rôle du calcium dans l'organisme	13
3.	la parathormone	13
a)	Rôle	13
b)	Régulation	13
c)	Mode d'action.	14
4.	la vitamine D3.....	14
a)	Rôle	14
b)	Besoins	14
c)	Mécanisme d'action.	14
III-	PHOSPHATEMIE ET MALADIE RENALE	15
IV-	MATERIEL ET METHODES.....	16
1.	Lieu d'étude.	17
2.	Evaluation des habitudes alimentaires.	17
3.	Dosage du phosphore inorganique.	18
4.	Analyse statistique	23
V-	RESULTATS	24
VI-	DISCUSSION	31
VII-	CONCLUSION	35
VIII-	RESUME	36
IX-	ANNEXES.	40

I- INTRODUCTION :

L'insuffisance rénale chronique conduit progressivement à la rétention de nombreuses substances, notamment le phosphore suite à une altération progressive de l'homéostasie phosphocalcique dans le cadre des Troubles Minéraux et Osseux associés aux Maladies Rénales Chroniques. Ce concept a été introduit en 2006 par la conférence de consensus Kidney Disease, et qui regroupe sous la même entité les anomalies biologiques du métabolisme phosphocalcique, les anomalies osseuses qualitatives et quantitatives, et les calcifications vasculaires. (1)

Les troubles qui en résultent sont fortement associés à la morbidité et mortalité des patients, avec un risque de fractures osseuses liées à la fragilité et surtout aux complications cardiovasculaires, pouvant conduire au décès(2). D'où l'intérêt d'une prise en charge thérapeutique globale axée sur l'hygiène de vie, l'observance thérapeutique et le suivi diététique chez les patients à risque.

Dans ce sens, Le groupe de travail KDIGO 2017, a souligné qu'il est nécessaire de disposer de meilleures méthodes d'évaluation de l'apport et de l'équilibre du phosphate d'origine alimentaire (3), en prenant en compte la structure chimique inorganique ou organique, en plus de la teneur absolue en phosphore alimentaire. (4)

II- PHYSIOLOGIE PHOSPHO CALCIQUE :

1/ LE PHOSPHATE :

Le phosphate est essentiel à la stabilité des os du squelette, au métabolisme énergétique de toutes les cellules notamment pendant la croissance, à la synthèse de l'ADN et aux cascades de signalisations intracellulaires. Le rein tient la fonction primordiale dans l'homéostasie du phosphate, son implication dans différentes pathologies relève l'importance du phosphate au sein de l'organisme. Son augmentation chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique est un problème clinique sérieux dont les conséquences sont l'hyperparathyroïdie secondaire, l'ostéomalacie par libération de calcium et de phosphate osseux ainsi que la précipitation de phosphate et de calcium dans les tissus, accompagnée de calcifications et d'artériosclérose (5).

a) La distribution du phosphate dans l'organisme :

La quantité de phosphate représente 1% du poids du corps. Il est réparti pour 90% dans le squelette sous forme d'hydroxyapatite, et constitue la partie minérale de l'os avec le calcium. Le reste soit 9% est présent dans les tissus mous alors que 1% seulement est retrouvé dans le secteur extracellulaire. (5).

- Dans les cellules, le phosphate est sous forme inorganique (non lié à du carbone) et sous forme organique (lié à du carbone).
- Dans le plasma, il y a 3 à 4,5 mmol/L de phosphate total.

Au niveau du plasma, le phosphore circule sous 2 formes, organique et inorganique. La partie inorganique, libre, étant variable et régulée. Elle suit un rythme circadien dont le nadir est situé le matin. Elle varie de 0,80 à 1,45 mmol/L. Ces variations sont dues à des transferts entre les compartiments extra- et intracellulaire, et sont influencés par l'apport alimentaire d'hydrates de carbone et la sécrétion d'insuline qui stimule la formation de composants phosphorylés. (5).

Environ 20% du phosphate plasmatique est lié aux protéines mais du fait de l'équilibre de Donnan, on peut considérer que la concentration de phosphate inorganique est identique dans le filtrat glomérulaire et l'eau plasmatique.

Le phosphate n'est pas cloisonné, et est échangé entre différents secteurs. Sur 24 heures, il n'y a pas de mouvements nets entre le phosphate extracellulaire et l'os ou les tissus mous. Lors du jeûne, il y a une mobilisation du phosphate cellulaire vers le plasma et de l'os vers le plasma à un moindre degré. (5).

b) Le bilan du phosphate :

• **Le bilan digestif :**

Les apports alimentaires sont un élément essentiel de la régulation du phosphate, ils varient entre 800 et 2000 mg/24h. Le phosphate est retrouvé dans de nombreux aliments.

Alimentation	Phosphate en mg pour 100g
Viandes	360
Fromage	83
Œufs	200 dans un œuf
Chocolat	400
Fruits	60
Légumes verts	150
Légumes secs	100
Pain complet	90
Lait entier-Yaourt	720

Figure 1: teneur en phosphate dans différents produits alimentaires

L'absorption intestinale du phosphate s'effectue dans le duodénum et le jéjunum, elle représente 65% chez un individu normal. Cette dernière résulte de la différence entre le phosphate ingéré et le phosphate excrété dans les fèces. Elle est faite de deux manières différentes en fonction des apports.

- Flux passif : C'est le flux prédominant quand les apports sont normaux ou augmentés. Il existe une relation linéaire entre les apports et l'absorption intestinale. Elle dépend de la concentration luminale moyenne de phosphate dans l'intestin.

- Flux actif : Il apparaît surtout quand les apports sont réduits. Il dépend du métabolisme rénal de la vitamine D. La production rénale de phosphate est stimulée par la baisse de la concentration de phosphate plasmatique. Quand les apports diminuent, entraînant une hypophosphatémie, il y a une augmentation de la production de la 1,25 (OH) 2D3. Celle-ci augmente alors l'absorption intestinale de phosphate en stimulant l'expression du Co transporteur sodium phosphate (Na-Pi) de type 2b (Npt2b) au niveau apical. (5)..Cela entraîne en quelques heures une disparition du phosphate de l'urine. La phosphatémie et la charge filtrée ont à peine diminué. (5).

Au contraire, quand les apports augmentent, il y'aura une augmentation rapide de la phosphaturie. Ceci est dû à une adaptation rapide de l'expression du cotransporteur NPT2a. (5).

Validation d'un Protocole de dosage du phosphore inorganique par la spectrophotométrie UV

A noter que des apports importants de calcium diminuent l'absorption intestinale de phosphate en formant des complexes phosphocalciques peu absorbables.

Il existe un flux de sécrétion digestive retrouvé dans les fèces (phosphate endogène fécal).

Il représente la partie du phosphate contenue dans les sécrétions digestives et qui n'a pas été réabsorbée par l'intestin.

La proportion du phosphate (35% qui n'est pas absorbé) dans le tube digestif est éliminée dans les selles. Le reste des sorties se fait par excrétion rénale. Celle-ci est égale à l'absorption nette intestinale car le transfert net de phosphate entre le liquide extracellulaire et l'os ou les cellules est nul sur 24 heures chez l'adulte.

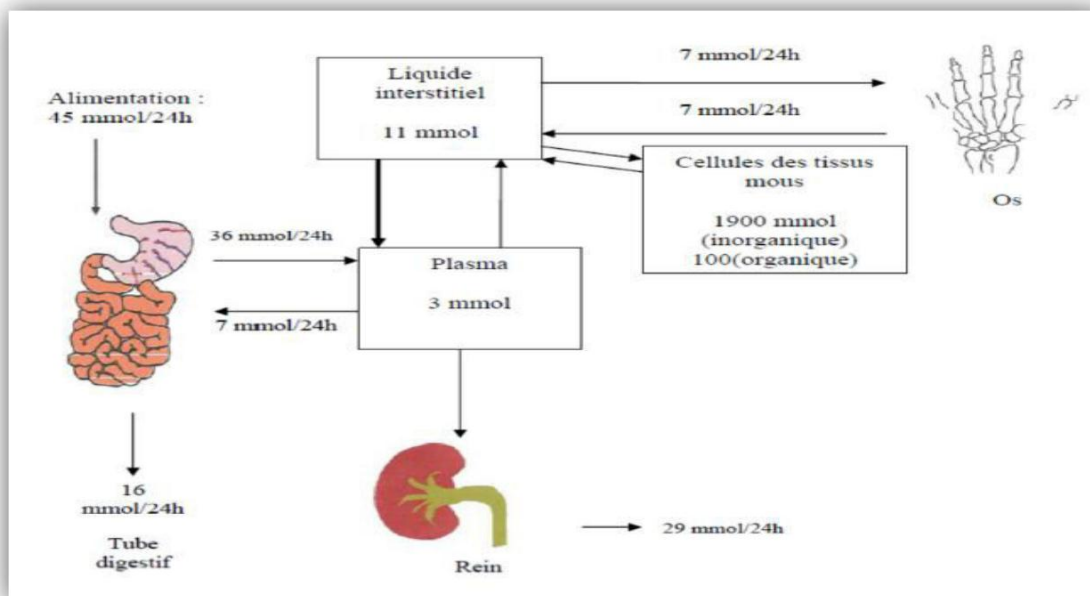


Figure 2 : Echanges du phosphate dans l'organisme pour un adulte sain de 70 Kg (ref)

CHAPITRE I : RAPPELS ANATOMO-PHYSIOLOGIQUES

Le bilan rénal :

Le débit de phosphate filtré est donc le produit de la concentration plasmatique par le débit de filtration glomérulaire (DFG) soit 180 mmol/24heures. Environ 10 à 20% du phosphate sont éliminés dans les urines pour un apport normal. Donc, 80 à 90% du phosphate filtré sont réabsorbés au niveau rénal. (5).

La réabsorption est caractérisée par l'existence d'une réabsorption maximale ou T_m du

Phosphate ($T_m\text{Pi}$). Les valeurs de $T_m\text{Pi}$ varient d'un individu à l'autre ainsi que les valeurs du DFG de sorte que le rapport $T_m\text{Pi}/\text{DFG}$ reflète au mieux la capacité de réabsorption tubulaire maximale du phosphate indépendamment des variables telles que la phosphatémie et le DFG.

La concentration plasmatique du phosphate à jeun est très proche de la valeur correspondant au rapport $T_m\text{Pi}/\text{DFG}$. Cela montre clairement que le $T_m\text{Pi}/\text{DFG}$ est un facteur majeur de la régulation de la phosphatémie. (5).

La réabsorption du phosphate au niveau rénal est sodium dépendant. Elle s'effectue dans les tubules proximaux. (5). Il n'y a pas ou très peu de réabsorption de phosphate dans l'anse de Henlé et dans les parties distales du néphron. Le Pi situé dans la lumière du tubule rénal entre dans la cellule au niveau de la membrane apicale par un mécanisme secondairement actif qui implique des co-transporteurs Na-Pi dépendants. Ils sont régulés par différents facteurs. Le Pi quitte la cellule en traversant la membrane basolatérale par un mécanisme mal élucidé impliquant en particulier un échangeur Pi-anion et un canal phosphatique. (5).

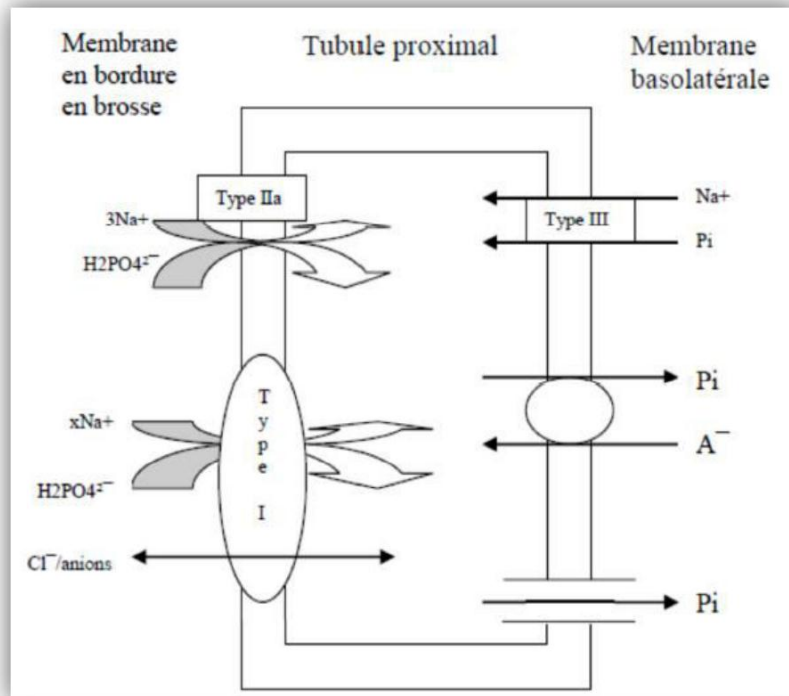


Figure 3: Mécanismes de la réabsorption rénale du phosphate

CHAPITRE I : RAPPELS ANATOMO-PHYSIOLOGIQUES

2. LE CALCIUM :

Le calcium est le minéral le plus abondant du corps humain, soit 1 à 1,2 kg environ chez l'adulte. 99% de ce calcium contribue à la formation et à la solidité des os et des dents. Le calcium non osseux, malgré sa faible part (1%), intervient dans de multiples fonctions indispensables à l'organisme: coagulation sanguine, contraction musculaire, conduction nerveuse, libération d'hormones...

Il est présent dans l'organisme sous deux formes, la forme liée et la forme libre dans la circulation.

a) Propriétés homéostatiques :

Il est utilisé comme second messenger intracellulaire pour conduire la messagerie nécessaire à la survie de l'organisme. Il s'agit de la conduction neuro-musculaire, de la contraction des muscles lisses et striés ainsi que de la libération des médiateurs chimiques.

Afin que la fonction de second messenger du calcium soit convenablement assurée, il est indispensable que celui-ci parvienne aux cellules par voie sanguine à une concentration constante.

Dans la cellule au repos, la concentration du calcium cytoplasmique est très faible (0,1 à 0,2 $\mu\text{mol/L}$). Elle est 10 000 fois plus forte à l'extérieur de la cellule. L'intense gradient entre l'extérieur et l'intérieur provoque une entrée évaluée à 4 nmol/min. Cette entrée est entièrement compensée par la pompe à calcium appelée Ca/Mg-ATPase. Dans les cellules, le calcium est stocké dans des organes de réserve qui sont la membrane cellulaire, le reticulum endoplasmique lisse et les mitochondries. Sous l'effet de stimuli extérieurs, ce calcium de réserve passe dans le cytoplasme et sa concentration cytoplasmique augmente jusqu'à 100 fois par rapport à son niveau de base. Après avoir exercé son action biologique, le calcium retourne directement dans le lieu de stockage.

b) Répartition du calcium dans l'organisme :

C'est le cation le plus important de l'organisme. Il représente sensiblement 1,6% du poids corporel. Il est très mal reparté dans l'organisme. Son transport se fait par un système actif : pompe à Ca^{++} qui est un système enzymatique. Le calcium est, à 90 % dans les os, sous forme d'hydroxyapatite et de phosphate et à 1 % dans les tissus mous. Un très faible quantité (0,1 %) se trouve dans les liquides extracellulaires. Au niveau plasmatique, le taux de calcium est stable ($100 \pm 5 \text{ mg/L}$, 2,25 à 2,75 mmol/L). Le calcium sanguin existe sous deux formes :

1. Une forme diffusible et ultra-filtrable qui est biologiquement active et qui représente 60 %. Il s'agit d'une fraction de calcium non dissociée, sous forme de complexe (phosphate, bicarbonate, citrate...) qui représentent 10 % et une fraction ionisée d'environ 50%.
2. Une forme non-diffusible est liée aux protéines plasmatiques, en particulier à l'albumine, et qui représentent 40 %. La variation du pH plasmatique va moduler la liaison du calcium aux protéines. Une acidose entraîne une diminution des liaisons calcium-protéines. Ce calcium lié aux protéines n'est pas physiologiquement actif mais contribue à la régulation de la glycémie.

c) Cheminement du calcium

Le calcium exogène provient essentiellement de l'alimentation, les produits laitiers et les eaux minérales apportant environ 1000 mg. L'apport minimum ne doit pas être inférieur à 300 mg par jour (pour un individu normal). Ces besoins sont augmentés lors de la grossesse, de l'allaitement et chez l'enfant. Parmi les 300 mg qui sont absorbés au niveau intestinal, 250 mg se déposent sur l'os. Le rein et l'intestin en éliminent 25 mg chacun.

Le calcium endogène provient du grenier calcique pendant le processus d'ostéolyse. 1250 mg de calcium sont pris aux os dont 1000 mg y retournent. Le rein et l'intestin en éliminent chacun 125 mg. Dans les conditions normales, le bilan des entrées et des sorties du calcium est nul.

L'élimination urinaire du calcium est d'environ 150 mg par jour. On observe des mécanismes classiques de filtration glomérulaire, de réabsorption tubulaire avec une petite sécrétion tubulaire. Cette réabsorption tubulaire peut être abaissée par la formation de complexes avec le calcium ou par acidose métabolique. La réabsorption est augmentée par l'action de la parathormone et de la vitamineD.

L'élimination urinaire du calcium peut être modulée par la concentration plasmatique du magnésium. Si le magnésium est éliminé en grande quantité, il y aura une augmentation de la rétention du calcium. Il existe donc un phénomène de compétition entre le calcium et le magnésium. (5).

a) Régulation du calcium :

Les deux principales hormones qui régulent la calcémie sont la PTH et la 1,25 di-OH vitamine D (ou calcitriol)

La PTH exerce un puissant effet hypercalcémiant en stimulant la libération de calcium à partir de l'os, la réabsorption rénale du calcium, et l'absorption intestinale du calcium par un effet indirect via la synthèse de la 1,25 diOH vitamine D. L'autre hormone importante dans la régulation de la calcémie est justement celle-ci.

La vitamine D native a deux origines : l'une exogène, alimentaire et l'autre endogène, par photosynthèse cutanée à partir d'un précurseur, le 7-déhydrocholestérol. La photosynthèse cutanée est liée à une action des rayons UVB (290- 315 nm) solaires qui permettent la transformation du 7 déhydrocholestérol présent dans les téguments de la peau en vitamine D3. Celle-ci passe dans la circulation où elle est transportée jusqu'au foie grâce à une protéine porteuse, la « vitamin D binding protein » (VDBP). Dans cet organe, elle est hydroxylée en position 25 par la 25-hydroxylase-cytochrome P 450 et ainsi transformée en 25-OH vitamine D (ou calcidiol) qui représente une forme de stockage de la vitamine D. La vitamine D d'origine cutanée représente la majeure partie de la 25-OH vitamine D circulante.

Ceci explique le fait que ses concentrations plasmatiques varient avec La PTH circulante représente donc un mélange hétérogène de plusieurs fragments peptidiques dont l'hormone intacte qui a une demi-vie plasmatique brève (concentration normale : 10-60 pg/L) et des fragments provenant de la protéolyse de la molécule entière, qui peuvent avoir par eux-mêmes une action physiologique. Le Ca^{2+} plasmatique module directement la synthèse d'ARNm et la sécrétion de PTH par les cellules parathyroïdiennes. Ces dernières possèdent en effet un récepteur sensible au calcium (CaSR) capable de détecter les variations locales de la calcémie. Une diminution de la calcémie s'accompagne d'une augmentation de la sécrétion de PTH tandis qu'en cas d'élévation de la calcémie, le calcium ionisé se lie alors au CaSR et inhibe la sécrétion de PTH (5).

Il existe d'autres déterminants de la sécrétion de PTH, ils sont d'une importance variable.

Parmi ceux-ci, on peut citer le calcitriol qui exerce un effet inhibiteur direct sur la transcription de la PTH. L'inverse, le phosphore stimule la sécrétion de la PTH, probablement par un effet direct sur les cellules parathyroïdiennes par un mécanisme non encore élucidé.

a) Absorption

L'absorption est adaptée en fonction des besoins. On a une absorption non spécifique. Pour l'absorption intestinale du calcium il existe un mécanisme actif qui fait appel à une protéine spécifique : Calcium Binding Protein (CBP).(6).

a) Rôle du calcium dans l'organisme

Le calcium rentre dans la constitution osseuse et permet également le fonctionnement normal des cellules nerveuses et musculaires. La fraction ionisée du calcium intervient dans la régulation du pH de l'organisme. Ainsi une déminéralisation du calcium ionisé entraîne au niveau de l'organisme une alcalose ; dans le cas contraire le pH diminue. Le calcium sous forme de citrate constitue en quelque sorte le squelette osseux c'est à dire qu'il est en grande partie responsable de la solidité de l'os. En ce qui concerne le tissu musculaire et plus particulièrement le myocarde, le calcium joue un rôle fondamental puisqu'il permet la contraction des oreillettes et ventricules, les ordres donnés aux muscles par l'intermédiaire des nerfs s'exécuteront également par l'intermédiaire de l'ion Ca^{2+} . Ce dernier joue un rôle essentiel dans la perméabilité entre les cellules de l'organisme permettant le passage des micro-éléments. Le calcium participe enfin à de nombreuses étapes de la coagulation sanguine (6).

3- LA PARATHORMONE :

a) rôle :

Au niveau rénal :

Stimulation de la transformation de la vitamine D en 1,25-dihydroxycholécalférol ou en 1,25-dihydroergocalciférol, induisant une augmentation de l'absorption intestinale de calcium. Stimulation de la réabsorption rénale de calcium. Inhibition de la réabsorption rénale de phosphate(7).

Au niveau de l'os :

La PTH favorise l'ostéolyse ce qui permet la libération de calcium dans le sang. Les cellules cibles de la PTH dans l'os sont les monocytes sanguins, précurseurs des ostéoclastes.

b) Régulation:

La concentration de PTH est régulée directement par la fraction ionisée de calcium (Ca^{2+}) et de magnésium (Mg^{2+}) plasmatiques.

Une diminution de ces dernières entraîne une augmentation de la sécrétion de la PTH, alors qu'une augmentation induit l'effet contraire.

Une chute plus rapide de la calcémie entraîne une augmentation plus marquée de la PTH, suggérant une certaine capacité d'anticipation de cette hormone.

Le 1,25-dihydroxycholécalférol et le 1,25-dihydroergocalciférol inhibent la sécrétion de PTH par effet de feedback négatif.

Par ailleurs, le magnésium peut, comme le calcium, agir au niveau de ces récepteurs, mais avec un effet bien moindre, et diminue la réponse de l'organisme à la PTH. (7).

c) Mode d'action :

La PTH se lie aux cellules cibles à un récepteur transmembranaire couplé à une protéine G, entraînant une augmentation de l'AMPc. Celle-ci entraîne probablement une cascade au niveau de protéines kinases, entraînant l'activation par phosphorylation de protéines nécessaires au transport du calcium et d'autres ions. (7).

4-LA VITAMINE D3:

a) Rôle :

Elle permet l'absorption de calcium par l'intestin.

La réabsorption du calcium et du phosphore par les reins et la résorption osseuse par les ostéoclastes.

Elle fixe le calcium sur l'os à dose physiologique alors qu'elle le libère à trop forte dose, provoquant une hypercalcémie (8)

b) Besoins:

Les apports nutritionnels conseillés en 2001 pour la population adulte française sont de 5 µg (ou 200 UI) par jour. Pour les individus à peau noire, il serait conseillé de doubler la dose recommandée (8)

c) Mécanismes d'action:

La vitamine D se fixe sur un récepteur nucléaire spécifique, le récepteur à la vitamine D, qui une fois activé se lie sur les séquences promotrices présentes sur l'ADN des gènes cibles, activant leur transcription, ce qui expliquerait les effets variés observés.

Les femmes qui ont le plus de vitamine D dans le corps auraient des télomères plus longs que celles qui manquent de cette vitamine ce qui pourrait avoir des effets bénéfiques sur le vieillissement.(8)

III PHOSPHATEMIE ET MALADIE RENALE :

La maladie rénale chronique a un effet délétère sur l'homéostasie du phosphore, en effet dès les stades 2 et 3, les taux des facteurs de croissance des fibroblastes-23 sont élevés, bien avant que l'hyperphosphatémie ne soit détectables.(9, 10)

Une augmentation du FGF-23 augmente l'excrétion fractionnelle du phosphate et diminue le taux de la 1,25 vitamine D, diminuant ainsi l'absorption du phosphore alimentaire. En conséquence, les niveaux de 1,25-vitamine D diminuent progressivement et parallèlement à une augmentation du FGF-23, aux stades précoces de la maladie rénale et avant l'apparition des manifestations cliniques classiques de la diminution de la masse rénale fonctionnelle.

Il est important de souligner que l'hypothèse de l'augmentation des niveaux de FGF-23 comme réponse compensatoire qui maintient les niveaux normaux de phosphate sérique n'est pas prouvée.

La diminution des niveaux de 1,25-vitamine D, à son tour, baisse l'absorption intestinale du phosphate et réduit l'inhibition des glandes parathyroïdes, ce qui conduit à l'augmentation de l'hormone parathyroïdienne circulante, qui augmente encore l'excrétion du phosphate urinaire (11).

Les effets directs du FGF-23 sur la minéralisation des os et sur d'autres organes sont moins clairs, bien que les taux sériques de FGF-23 soient souvent élevés.

Chez les patients atteints d'ostéomalacie d'origine tumorale, les concentrations les plus élevées sont retrouvés chez les patients atteints de maladie rénale chronique, et en particulier, ceux au stade de suppléance chez qui le FGF-23 sérique peut être plus de 1000 fois supérieur à la normale.(11)

MATERIEL

ET METHODES

1-LIEU DE L'ETUDE :

L'enquête diététique a été réalisée dans le centre d'hémodialyse Al Ghassani de Fès et l'étude par spectrophotométrie dans l'unité de recherche REIN de la faculté de Médecine et de pharmacie de Fès.



Figure 4 : centre d'hémodialyse Al Ghassani de Fès

2-EVALUATION DES HABITUDES ALIMENTAIRES

Pour évaluer les habitudes alimentaires des patients hémodialisés chroniques, un questionnaire a été élaboré par l'équipe de néphrologie en collaboration avec le diététicien du CHU Hassan II de Fès (annexe 1). Nous avons inclus 50 patients adultes, hémodialisés chroniques depuis plus de 12 mois, ayant donné leur accord pour participer à l'étude et sélectionnés de façon aléatoire. Le questionnaire a été administré au lit des patients pendant les séances d'hémodialyse durant le mois de février 2019 par deux infirmières du centre d'hémodialyse. Le recueil et l'analyse des résultats ont été réalisés par les logiciels : Excel et SPSS.

3-VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE DU PHOSPHORE INORGANIQUE

a) Principe :

L'acide phosphorique est incolore, alors il ne peut être visualisé directement par spectrophotométrie UV-Visible (figure I). La technique la plus appropriée pour un dosage quantitatif est de le convertir en une substance colorée. En effet, l'ion orthophosphate réagit avec l'ion molybdate pour former un complexe phosphomolybdate. Ce dernier est réduit avec l'acide ascorbique en milieu acide pour provoquer l'apparition du bleu de molybdène, dont l'absorbance à 830 nm est proportionnelle à la concentration de l'ion orthophosphate présent dans l'échantillon(3).

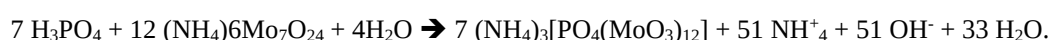


Figure 5: spectrophotomètre UV-Visible.

b) Protocole expérimental.

La préparation des solutions a pour objectif d'avoir une gamme d'étalonnage de concentrations croissantes allant de 0.4 mg/l à 2 mg/l d'acide phosphorique. Pour préparer la **solution mère de phosphore (S0)**, nous avons dissous 1.998 g de Phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4) dans 1000 ml d'eau H_2O . Cette solution contient 1000 mg/l de P_2O_5 .

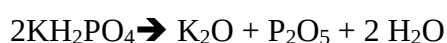




Figure 6 : préparation des solutions au laboratoire REIN

Une **solution intermédiaire** est préparée en diluant 2.5 ml de S0 dans 47.5 ml d'eau distillée (première dilution). Ensuite, la **solution étalon de phosphore** est préparée à partir de la solution intermédiaire (4 ml) diluée dans 46 ml d'eau distillée (deuxième dilution). La concentration finale est de 4 mg/L.

Pour préparer la **solution réductrice**, nous avons dissous précisément 1g de molybdate d'ammonium dans 50 ml de l'eau distillée, et 1.76 g d'acide ascorbique dans 100 ml d'eau, et dilué 17 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 dans 200 ml d'eau en agitant et en laissant refroidir. Nous avons ensuite ajouté 39 ml de molybdate d'ammonium à 60 ml d'acide ascorbique et 125 ml d'acide sulfurique et complété à 250 ml avec de l'eau.

Le **choix de la longueur d'onde** s'est basé sur le scan de l'absorption maximale de la solution dans l'intervalle de 400 à 900 nm (figure II). Ceci nous a permis de définir le spectre d'absorption maximal du bleu de molybdène qui se situe à 830 nm.



Figure 7 : préparation de la gamme d'étalonnage

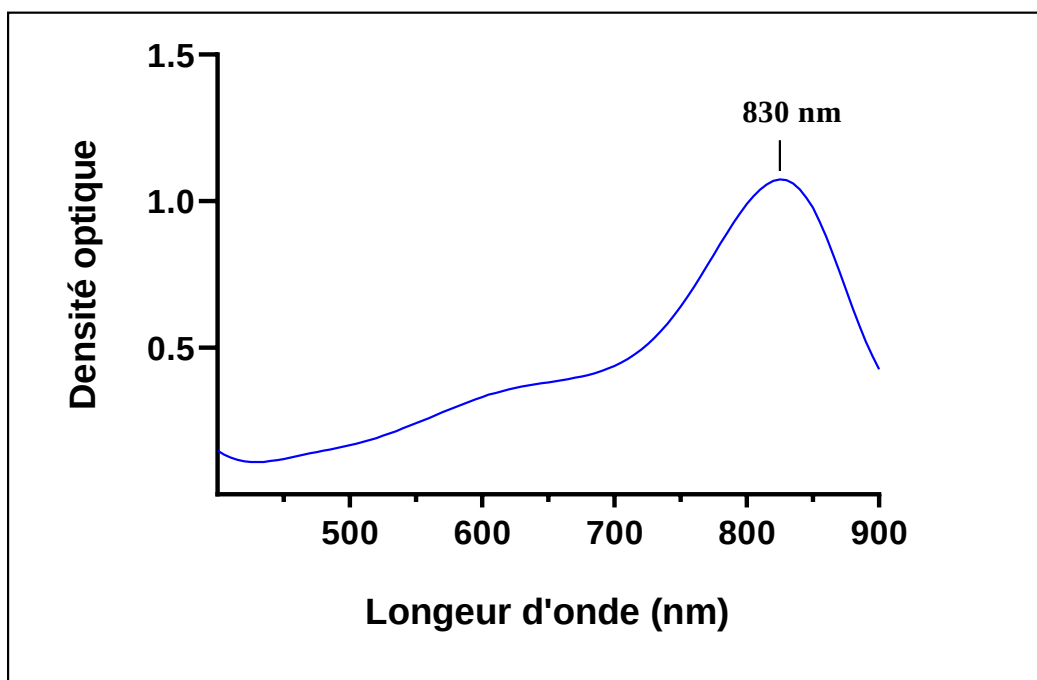


Figure 8 : Spectre d'absorption maximal du bleu de molybdène.

c) Validation du protocole :

La validation est une des composantes essentielles dans les procédures d'analyse, devenue indispensable pour avoir des analyses fiables. Elle permet l'évaluation des compétences des laboratoires d'étalonnage, d'essais et d'analyse.

Ce travail a été réalisé selon le principe du profil d'exactitude. Ce dernier est basé sur un modèle statistique pour estimer la justesse et la fidélité des méthodes utilisées.

Les critères étudiés dans notre travail sont les suivants :

- **La linéarité** : c'est la capacité, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration en substance présente dans l'échantillon. Le coefficient de corrélation doit être supérieur à 0,995 pour respecter le critère de la linéarité.
- **La justesse** : c'est l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue et une valeur de référence certifiée. Elle est définie par l'équation suivante : Justesse (%) = 100 – Erreur relative (%).
- **La fidélité** : elle correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats obtenus dans une série de mesures provenant de multiples prises d'un échantillon homogène dans des conditions prescrites. Elle s'exprime par la mesure de la répétabilité et la reproductibilité.

La répétabilité (r) c'est la fidélité dans des conditions de répétabilité (même opérateur, même laboratoire, même méthode, même matériel...). Elle est calculée par la formule : $r = 2,8 \text{ Sr}$.

La reproductibilité (R) est la fidélité dans des conditions de reproductibilité, avec au moins le changement d'une des conditions. Elle est calculée par la formule :

$$R = 2,8 \text{ SR}$$

- La limite de détection est la plus basse concentration pour un composé analysé dans une matrice lorsqu'il subit toutes les étapes d'une méthode complète.
- La limite de quantification est la plus faible concentration d'échantillon qui peut être déterminée avec un niveau acceptable d'incertitude.

➤ **Etape 1 de la validation : Préparation du plan d'étalonnage :**

La préparation du plan d'étalonnage (tableau I) a été effectuée à l'aide d'un produit standard. Le plan expérimental était formé par trois séries de six niveaux de concentrations entre 0.3 et 2 mg/l d'acide phosphorique (P_2O_5), avec réalisation de trois répétitions pour chaque niveau quotidiennement.

Les concentrations des valeurs de références sont exprimées en mg/l et les réponses exprimées par la densité optique.

Tableau 1 : plan d'étalonnage (mesure exprimée par la densité optique)

Niveau [P ₂ O ₅]	DO		
	Série 1	Série2	Série3
2	1,109	1,075	1,026
2	1,069	1,043	1,067
2	1,029	1,055	1,105
1,6	0,897	0,991	0,906
1,6	0,921	0,895	0,895
1,6	0,975	0,912	0,92
1,3	0,684	0,698	0,716
1,3	0,863	0,669	0,705
1,3	0,722	0,674	0,741
1	0,514	0,61	0,527
1	0,562	0,508	0,552
1	0,551	0,522	0,51
0,6	0,335	0,33	0,363
0,6	0,367	0,308	0,378
0,6	0,319	0,372	0,355
0,3	0,179	0,155	0,18
0,3	0,159	0,149	0,18
0,3	0,154	0,179	0,168

➤ **Etape 2 de la validation : Préparation du plan de validation**

Le plan de validation était préparé par trois séries de 03 niveaux (0,6 ; 1.3 et 2 mg/l) avec trois répétitions à chaque niveau. (tableau II)

Tableau 2 : Plan de validation (mesure exprimée en densité optique)

Niveau [P₂O₅]	DO		
	Série 1	Série2	Série3
2	1,109	1,075	1,026
2	1,069	1,043	1,067
2	1,029	1,055	1,105
1,3	0,768	0,747	0,801
1,3	0,706	0,743	0,773
1,3	0,798	0,805	0,72
0,6	0,318	0,39	0,344
0,6	0,385	0,351	0,312
0,6	0,38	0,37	0,36

DOSAGE DU PHOSPHORE INORGANIQUE

A partir des éléments de l'enquête diététique réalisée auprès des patients hémodialysés chroniques, une liste des aliments les plus utilisés dans l'alimentation quotidienne est établie. Les boissons et aliments solides ainsi identifiés parmi les plus utilisés seront proposés pour quantification de leur teneur en phosphore en utilisant la spectrophotométrie UV selon la technique détaillée ci-dessus.

4- SAISIE ET ANALYSE :

La collecte des données a été réalisée en utilisant un logiciel informatique (EXCEL2007). L'analyse descriptive des données sociodémographiques, cliniques, quantitatives ont été exprimées en moyennes $\pm$ Ecart type et les variables qualitatives en pourcentages $\pm$ Ecart type.

CHAPITRE I : RAPPELS ANATOMO-PHYSIOLOGIQUES

RESULTATS

I) DESCRIPTION GENERALE DE LA POPULATION

Notre enquête diététique a porté sur 50 patients hémodialysés chroniques au centre d'hémodialyse de l'hôpital AL AGHASSANI, sélectionnés de façon aléatoire, notre échantillon comportait 28 femmes soit 56%, et 22 hommes soit 44%. Soit un sexe ratio de 1,27. L'âge moyen était de 55 ± 6 ans avec des extrêmes allant de 22 à 64.

II) RESULTATS DE L'ENQUETE DIETETIQUE :

L'enquête diététique réalisée dans le centre d'hémodialyse Al Ghassani de Fès auprès de 50 hémodialysés chroniques révèle une consommation de pain blanc et/ou complet quotidienne dépassant 300 g/jour répartis en trois prises quotidiennes chez 42 patients soit 84% de notre échantillon.

La consommation des produits laitiers, essentiellement le lait et les yaourts, à raison de 02 fois par jour chez 30 patients (60%) et une seule fois par jour chez 15 patients (30%). Par ailleurs, les résultats de notre enquête révèlent une consommation importante en produits en conserve :

- a. Tomates en conserve (entre 03 et 04 fois par semaine) chez 41 patients soit 82%.
- b. Poisson en conserve (1 fois/ semaine) à raison de 100 g chez 24 patients soit 48 %.
- c. Charcuterie jusqu'à trois fois par semaine chez 27 malades soit 54 %.

L'étude concernait également les boissons gazeuses, avec une très forte consommation surtout chez les jeunes hémodialysés, à raison de 02 fois par semaine, ce qui correspond à 400 ml par semaine, chez 14 patients soit 28% de notre échantillon.

III) La linéarité

Les points de gammes sont linéaires dans les 3 séries et Les coefficients de corrélation obtenus sont supérieur à celui attendu ($\leq 0,995$), Les résultats sont représentés dans la figure III.

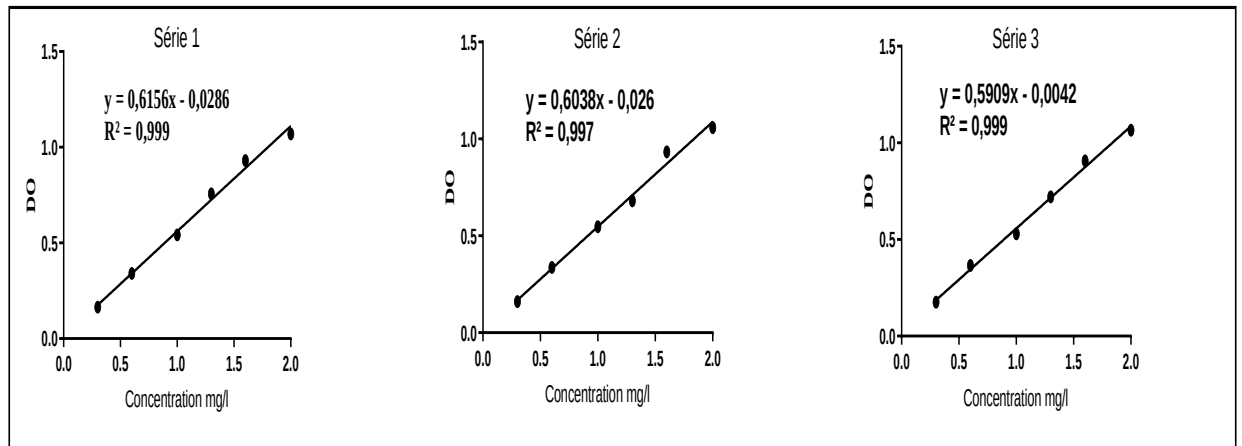


Figure 9 : courbes d'étalonnage en régression linéaire du dosage du phosphore pour les trois séries.

A partir des données du plan de validation et en utilisant les paramètres du modèle d'étalonnage, on calcule les concentrations retrouvées par prédiction inverse. Ces concentrations servent à calculer les valeurs des biais relatifs, les recouvrements, les coefficients de variation de répétabilité et de fidélité intermédiaire des différents niveaux de concentration. Ces paramètres sont nécessaires pour établir le profil d'exactitude. Les résultats bruts de la validation sont représentés dans l'annexe

L'analyse des résultats de validation permet d'observer un taux de recouvrement variant entre 85,89 % et 113,33 %, alors que le biais relatif varie entre -14,10 % et 13,33 %.

- a) La fidélité : Les coefficients de variation de la répétabilité qui reflètent la fidélité intra-jour pour chaque niveau de concentration sont de l'ordre 2,32 % et 7,71 %. Concernant la fidélité intermédiaire, les coefficients obtenus sont répartis entre 2,45 % et 9,05 %.
- b) La justesse : Les biais relatifs à la justesse sont compris entre -3,85 % et 9,62 %.
- c) L'exactitude : la méthode est validée pour un intervalle de dosage ou le profil d'exactitude varie dans les limites fixées à 15%.

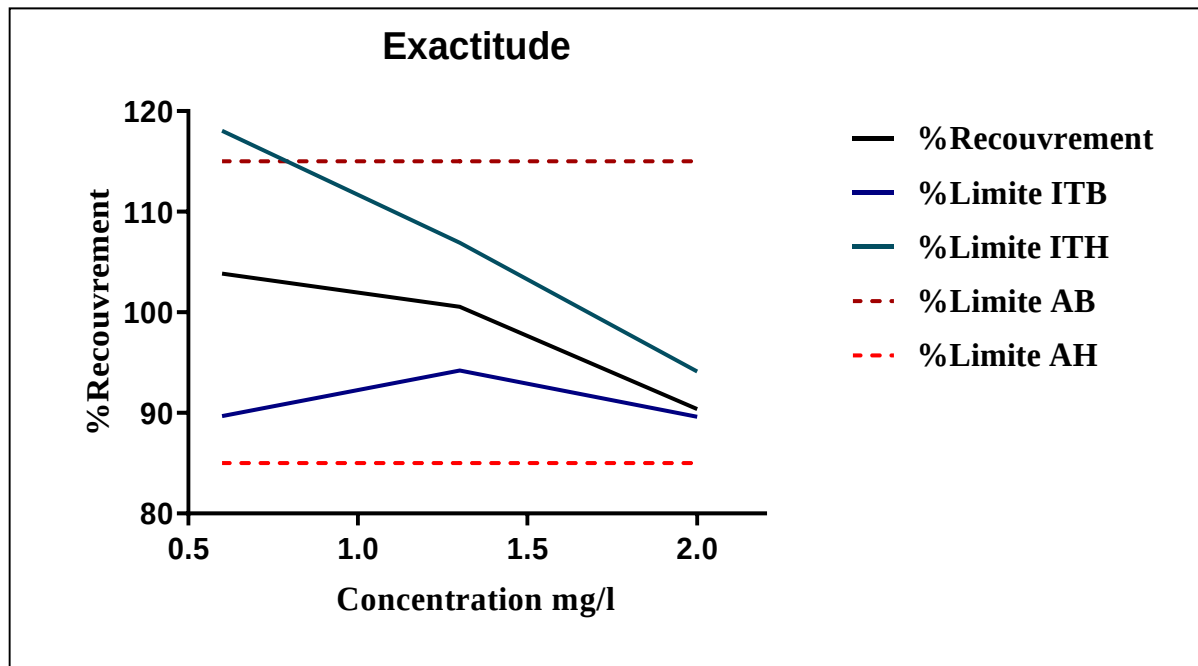


Figure 10 : Profil d'exactitude pour le dosage du phosphore inorganique.

Les limites de tolérance à 85% qui représentent les limites d'intervalle de tolérance haut et bas (limite ITB et limite ITH) sont compris entre les limites d'acceptation (limite AB et limite AH).

d) La linéarité : Un modèle de régression linéaire a été ajusté sur les concentrations calculées en fonction des concentrations introduites dans le but d'obtenir l'équation suivante :

$$Y = 0,8579 X + 0,1431$$

Où Y = concentrations calculées (g/l) et X = concentrations introduites (g/l).

Le coefficient de détermination (r^2) est égal à 0,9964.

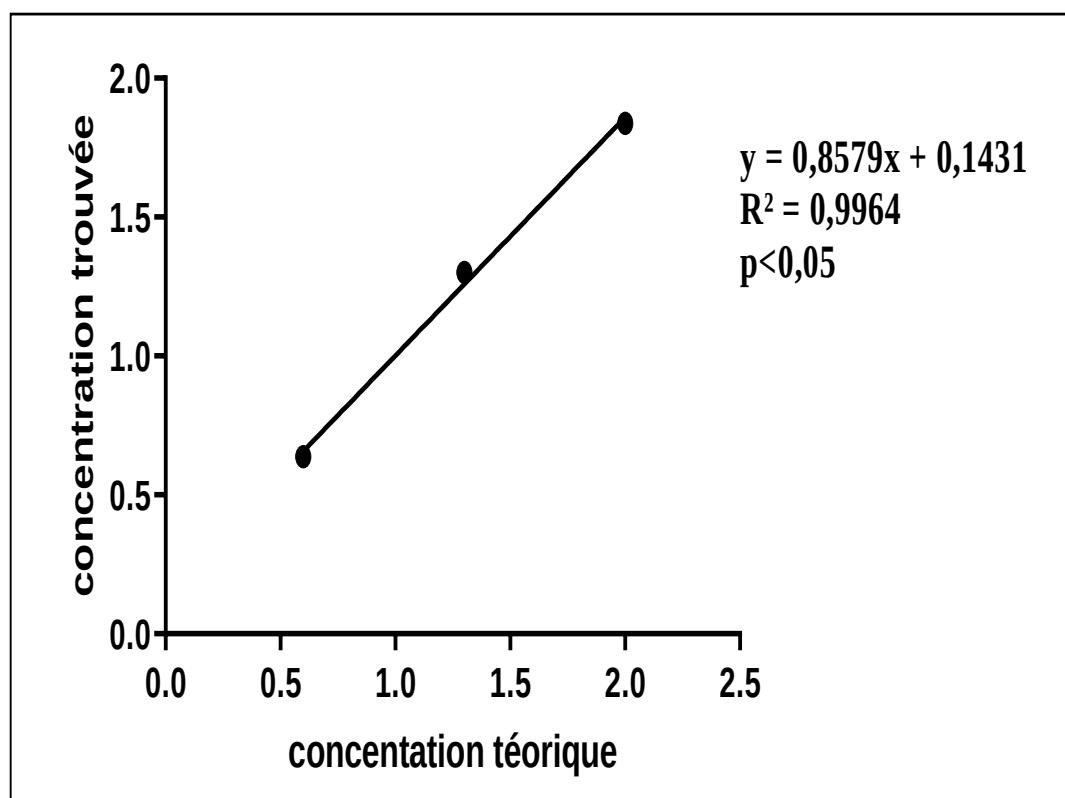


Figure 11 : relation entre concentration introduite (théorique) et concentration calculée (trouvée)

Dans le but de démontrer la linéarité de la méthode, une approche basée sur l'intervalle de tolérance absolue a été adopté.

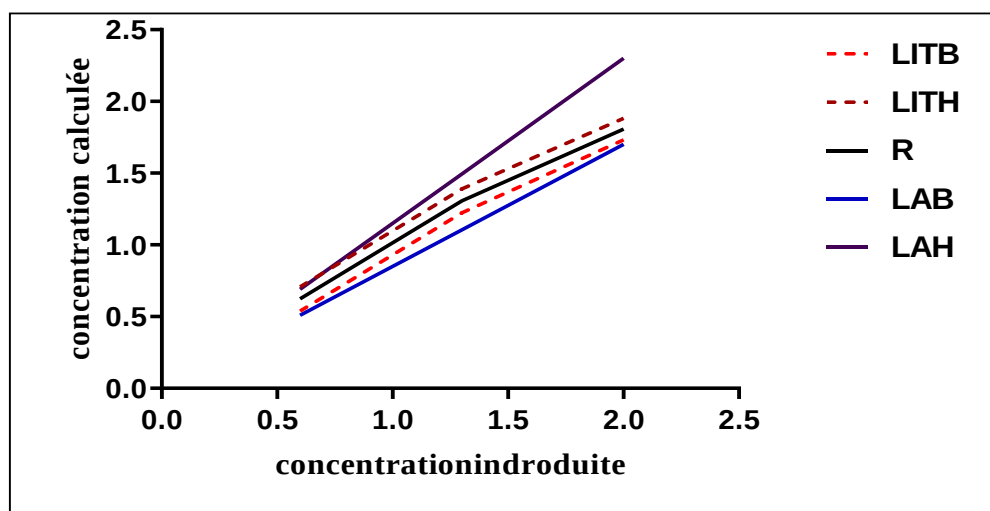


Figure 12 : Graphique de linéarité.

Les limites de l'intervalle de tolérance sont incluses dans les limites d'acceptation de $\pm 15\%$, donc la méthode est valide.

e) Les limites de quantification et de détection :

La limite de quantification est de l'ordre de 0,189 mg/l, alors la limite de détection est de l'ordre de 0,034 mg/l.

IV) DOSAGE DU PHOPSHORE INORGANIQUE PAR SPECTROPHOTOMETRIE DANS L'ALIMENTATION MAROCAINE :

Le dosage du phosphore inorganique par spectrophotométrie réalisé à l'unité REIN au laboratoire de la faculté de médecine et de pharmacie de Fès révèle une teneur en phosphore inorganique variable dans les 05 boissons relevées à partir de l'enquête alimentaire. Les boissons gazeuses, surtout celles comportant du Cola contiennent 167.12 mg/l de phosphore inorganique, alors que celles à base du Tonic ne contiennent qu'une faible concentration (8.73 mg/l). Contrairement aux jus dont la teneur en phosphore inorganique ne dépasse pas 30.44mg/l. (figure VII)

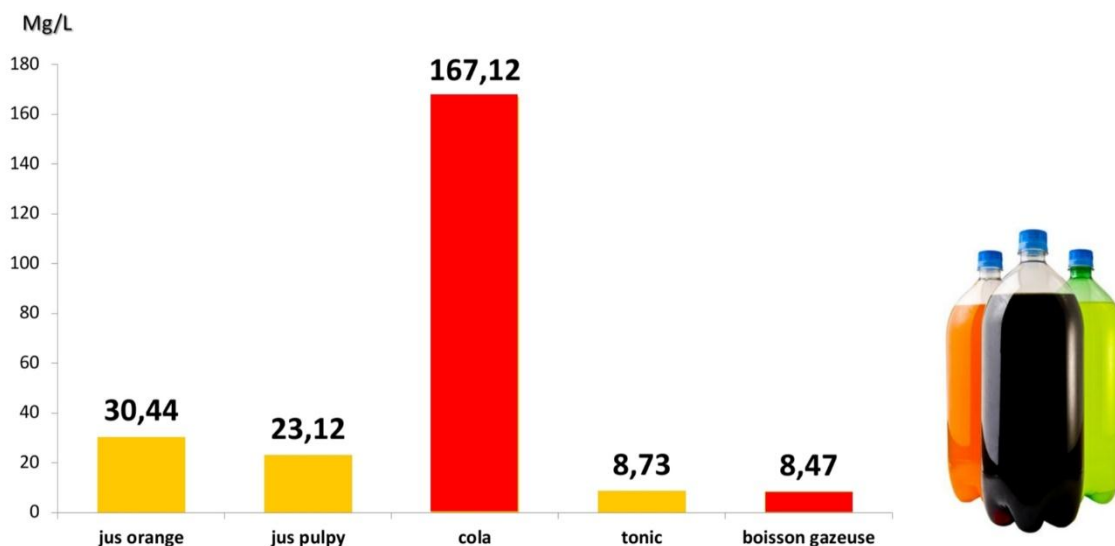


Figure 13 : concentration du phosphore retrouvée dans les boissons (p : boisson)

Validation d'un Protocole de dosage du phosphore inorganique par la spectrophotométrie UV

Le dosage du phosphore inorganique par spectrophotométrie réalisé également sur les aliments solides les plus utilisés à partir de l'enquête alimentaire révèle une teneur en phosphore importante dépassant les 66.03 mg/g dans le thon en conserve, et 17.08 mg/g dans les tomates en conserve sachant que la consommation moyenne de cette dernière dépasse les 03 à 04 fois par semaine. D'autres produits ont révélés également une teneur importante supérieur à 23.89 mg/g intéressant essentiellement les viandes transformées

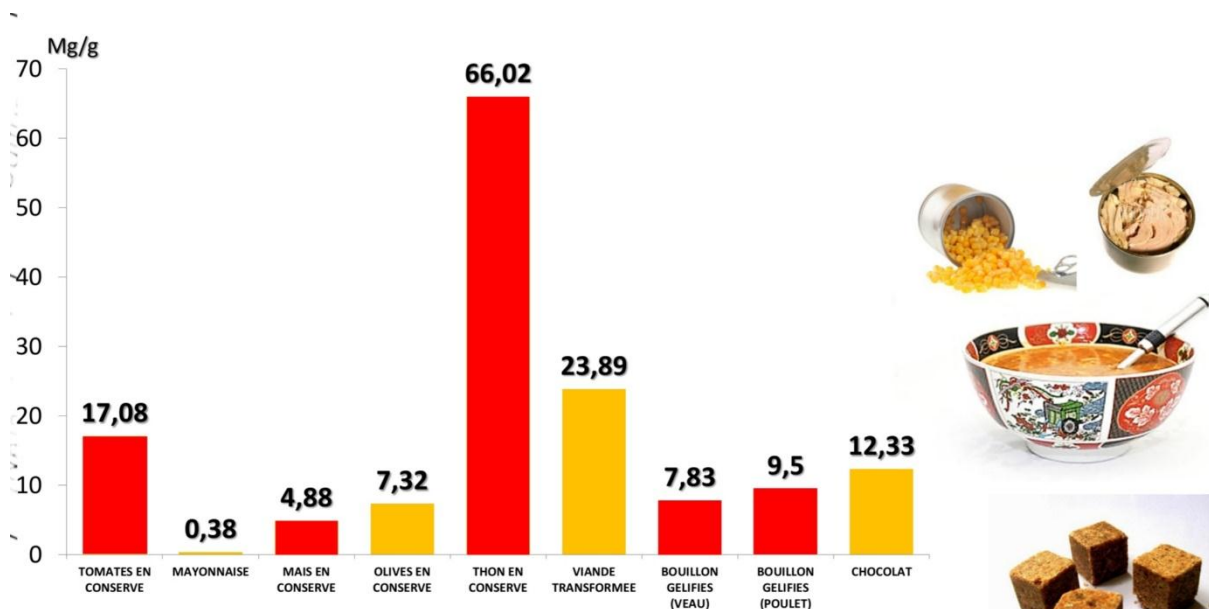


Figure 14: Concentration du phosphore retrouvée dans les boissons (p : produits alimentaires)

DISCUSSION

La quantité de phosphore dans l'organisme est d'environ 700 g dont 85 % sont situés dans le squelette sous forme de cristaux d'hydroxyapatite, 14 % sont intracellulaires et 1 % est extracellulaire. Le phosphore extracellulaire est présent dans les phospholipides (phosphore organique, 70 %) ou sous formes inorganiques (phosphates inorganiques, 30 %). environ 15 % du phosphate inorganique est lié aux protéines dont 85 % sont complexés à des cations ou circulent sous forme mono- ou dihydrogénés. Cette dernière fraction est celle qui est dosée et elle ne peut représenter l'ensemble du phosphore de l'organisme. (12)

La phosphatémie normale est de 0,8 à 1,45 mmol/L (2,5–4,5 mg/dl). Les apports nutritionnels sont très variables, entre 700 et 1400 mg/j, dont la majeure partie des phosphates alimentaires est essentiellement liée aux additifs, mais aussi aux protéines animales et surtout aux laitages. Chez les patients atteints de maladie rénale avancée une restriction de certains aliments consommés en excès doit être conseillée (13) (14).

Au niveau rénal, le phosphore est filtré par les glomérules et 80 % est réabsorbé par le cotransporteur (Npt2a) des tubules proximaux ; 20 à 30 % du phosphate inorganique filtré est réabsorbé au niveau des tubes distaux. Cette réabsorption dépend de la phosphatémie et elle est aussi régulée par la PTH et le FGF-23.

Lors de la maladie rénale chronique, l'homéostasie du phosphore est perturbée dès que le débit de filtration glomérulaire est inférieur à 60 ml/min et bien avant qu'une hyperphosphatémie n'apparaisse [15,16]. La rétention de phosphore est compensée, au début, par l'augmentation du FGF-23 [17] et de la PTH qui augmentent la phosphaturie. à partir d'un débit de filtration glomérulaire inférieur à 30 ml/min, ces mécanismes compensateurs sont dépassés et une hyperphosphatémie peut apparaître [18]. L'hyperphosphatémie aggrave l'hyperparathyroïdie secondaire, soit par son action directe sur les cellules parathyroïdiennes, soit par la baisse du calcitriol et l'hypocalcémie secondaire [19]. En retour, cette hyperparathyroïdie peut aggraver l'hyperphosphorémie par l'augmentation du renouvellement osseux.

Le contrôle du phosphore alimentaire est souvent une stratégie principale dans la gestion des patients atteints de maladie rénale chronique. Les protéines alimentaires sont une source majeure d'apport en phosphore. Des données récentes indiquent que la restriction alimentaire en phosphore imposée peut compromettre la nécessité d'un apport suffisant en protéines, conduisant à un gaspillage énergie-protéine et éventuellement à une mortalité accrue. (20) Les deux principales sources de phosphore alimentaire sont organiques, notamment les protéines animales et végétariennes, et les agents de conservation inorganiques, principalement des aliments. Les aliments d'origine animale et végétale sont riches en phosphore organique. Généralement, 40% à 60% du phosphore d'origine

animale est absorbé. cela varie en fonction du degré d'activation gastro-intestinale de la vitamine D-récepteur, alors que le phosphore végétal, principalement associé à des phytates, est moins absorbable par le tractus gastro-intestinal humain. Jusqu'à 100% du phosphore inorganique dans les aliments transformés peuvent être absorbés; c'est-à-dire du phosphore dans le fromage fondu et certaines boissons à base de soda (cola). Une étude récente suggère qu'un taux d'ingestion de phosphore et de protéines plus élevé est associé à un risque accru de décès chez les patients sous hémodialyse de longue durée(20). Par conséquent, pour la gestion du phosphore dans les maladies rénales chroniques, en plus de la teneur absolue en phosphore alimentaire, il convient de prendre en compte la structure chimique (inorganique par rapport à organique), le type (animal par rapport à la plante) et le rapport phosphore-protéine (20). Nous recommandons des aliments et des suppléments ne contenant que peu ou pas d'additifs inorganiques au phosphore, contenant davantage de protéines végétales et présentant un rapport phosphore-protéine alimentaire inférieur à 10 mg / g. Le blanc d'œuf frais (non transformé) (rapport phosphore-protéine inférieur à 2 mg / g) est un bon exemple de nourriture souhaitable, qui contient une forte proportion d'acides aminés essentiels contenant peu de matières grasses, de cholestérol et de phosphore (20).

Malgré toutes ces approches, la normalisation des taux de phosphore sérique est souvent difficile et souvent impossible à obtenir. Des données récentes suggèrent que moins de 50% des patients atteignent les niveaux cibles de phosphore sérique. (21) L'administration de liants du phosphore contenant du calcium, de l'aluminium, de la résine ou des métaux lourds peut entraîner une surcharge en calcium, une toxicité de l'aluminium, des troubles gastro-intestinaux ou une accumulation de métaux lourds, bien que, en plus du fardeau de la pilule (22) Même si la restriction du phosphate alimentaire peut entrer en conflit avec la nécessité de maintenir un apport en protéines adéquat, (23,24) les stratégies alimentaires restent au premier plan des interventions de contrôle du phosphore. Par conséquent, une bonne connaissance des sources de phosphore alimentaire est fondamentale pour la gestion clinique et diététique des patients atteints de néphropathie chronique.

Dans la littérature, Les sociétés savantes, notamment les KDOQI recommandent aux patients en hémodialyse d'avoir un apport journalier à 1,2 g / kg / j (25). Des études épidémiologiques indiquent qu'un apport protéique normalisé plus élevé à 1,4 g / kg / j est associé à la plus grande survie chez les patients en hémodialyse.(26) Néanmoins, comme discuté ci-dessus, un apport plus élevé en protéines est généralement associé à une plus grande consommation de phosphore et un risque accru d'hyperphosphatémie montré dans la figure 2.

Il est important de noter que la restriction sur le phosphore alimentaire pour contrôler le phosphore sérique est souvent associée à une réduction de l'apport en protéines, qui est associé à la perte de protéines et par conséquent une survie médiocre.

Plusieurs chercheurs ont essayé de d'évaluer la teneur exacte du phosphate inorganique, Oenning et ses collaborateurs (27) ont comparé 3 méthodes pour estimer la teneur en phosphore alimentaire en utilisant les deux tables alimentaires standard et analyses chimiques de 20 repas. Ils ont constaté que toutes les méthodes de manière significative sous-estimaient la teneur en phosphore alimentaire de 15% à 25%. Les bases de données sur les nutriments disponibles ne reflètent pas la teneur supplémentaire en phosphore due aux additifs alimentaires. Ces variations et inexactitudes de la teneur en phosphore peut rendre difficile l'estimation avec précision la teneur en phosphore pour les diététiciens.

Dans notre travail nous avons proposé une méthode de dosage du phosphore inorganique par la spectrophotométrie Ultra-violet. La validation de la méthode s'est basée sur la stratégie du profil d'exactitude pour approuver la méthode de dosage du phosphore. Cette stratégie est l'une des procédures analytiques basées sur des critères d'acceptation qui prennent en compte l'erreur totale d'une mesure et qui sont : la justesse et la fidélité intermédiaire. Le profil d'exactitude peut être considéré comme un outil de décision très utile pour sélectionner le modèle de régression le plus approprié pour la calibration, mais aussi la détermination des limites de quantification et la sélection de l'intervalle des concentrations à doser. (28)

Les résultats de la validation ont donné ont montré que le choix de la méthode de validation est adéquat puisqu'elle est capable de reproduire une proportion suffisante de mesures qui se situeront à l'intérieur de la zone d'acceptabilité.

. À l'heure actuelle, il n'existe aucune autre méthode précise ou reproductible permettant de faire la distinction entre le phosphore organique et le phosphore inorganique. (28-29)

Dans ce sens la technique de dosage du phosphore inorganique par spectrophotométrie Ultra-violet en complément à l'utilisation du rapport phosphore-protéine apparaît toujours comme une méthode intéressante pour la gestion de l'alimentation et l'éducation des patients atteints de néphropathie chronique prenant en considération la forme organique et inorganique.(30-31)

CONCLUSION :

L'apport alimentaire en phosphate provient en grande partie d'aliments à haute teneur en protéines ou d'additifs alimentaires et constitue un facteur important dans l'équilibre du phosphore chez les patients atteints de néphropathie chronique.

Le dosage du phosphore par la spectrophotométrie UV est une méthode intéressante pour la gestion de l'alimentation et l'éducation des patients atteints de néphropathie chronique prenant en considération la forme organique et inorganique.

Le développement et la validation de ce protocole par la spectrophotométrie UV, nous a permis un dosage quantitatif exact pour une meilleure prescription diététique sur la base de ce que nos malades consomment et ce dans le but de Contrôler l'hyperphosphatémie chez nos patients hémodialysés chronique.

RESUME :

Introduction :

Le contrôle du phosphore alimentaire est souvent une stratégie principale dans la gestion des patients atteints de maladie rénale chronique, les protéines alimentaires étant une source majeure d'apport en phosphore avec un risque accru de morbi mortalité liée aux complications cardiovasculaires qui en résultent. D'autre part un régime pauvre en protéine est également associé à une mortalité élevée. Par conséquent, pour une bonne gestion diététique du phosphore dans l'insuffisance rénale chronique, il convient de prendre en compte la structure chimique inorganique ou organique, en plus de la teneur absolue en phosphore alimentaire.

Matériels et méthodes :

Dans notre travail, nous avons évalués les habitudes alimentaires des patients hémodialysés de l'hôpital Al Ghassani à travers une enquête diététique, ce qui a permis de dégager les aliments les plus utilisés (boissons gazeuses, tomates en conserves, pain..), dans un échantillon de 50 hémodialysés. Ensuite, nous avons validé un protocole de mesure de la teneur en phosphore inorganique.

Résultats :

En utilisant la spectrophotométrie UV, puis à partir les données du plan de validation et en utilisant les paramètres du modèle d'étalonnage, on calcule les concentrations retrouvées par prédiction inverse selon la formule suivante :

$Y = 0,8579 X + 0,1431$. Les critères de validation du protocole ont intéressés les paramètres suivants : la linéarité, la Justesse, la fidélité.

Conclusion :

Les données obtenues nous ont permis de déterminer la teneur en phosphate exacte d'une part, et d'adapter les messages d'éducation thérapeutique aux habitudes alimentaires réelles de nos patients d'autre part.

Les références :

- (1) KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int. Suppl.* août 2009;(113):S1 130.
- (2) N Noori , K Kalantar-Zadeh , CP Kovesdy , B Bross , D Benner , JD Kopple . Association of dietary phosphorus intake and phosphorus to protein ratio with mortality in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(4):683–692.
- (3). KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* (2017).
- (4) CJ Vorland et al. Effects of Excessive Dietary Phosphorus Intake on Bone Health. *Curr Osteoporos Rep.* (2017).
- (5) Borel J-P, Maquart F-X, Gillery P, Exposito M. *Biochimie pour le clinicien.* Paris : Frison-Roche, 2011. 394 p. 2876713160
- (6) Régime alimentaire, nutrition et prévention des maladies chroniques - Rapport d'une Consultation OMS/FAO d'experts, OMS, Série de Rapports techniques 916, Organisation mondiale de la Santé, 2012.
- (7) Quarles LD. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. *J Clin Invest.* 2008;118:3820-8.
- (8) LATTB M, Etude du profil calcique. 216 université Djilali Liabes Sidi Bel Abbès) Ingenieur d'état en Biologie 2006.
- (9) Gutierrez O, Isakova T, Rhee E, et al. Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:2205-15.
- (10) Block GA, Klassen PS, Lazarus JM, Ofsthun N, Lowrie EG, Chertow GM. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:2208-18
- (11) Isakova T, Gutierrez OM, Wolf M. A blue print for randomized trials targeting phosphorus metabolism in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2009;76:705-16.
- (12) Calcium and phosphorus in the normal organism. *Rev Med Liege.* 1962 Jul 15;17:444-8.
- (13) Kariyawasam D. Phosphate management-a dietitian's perspective. *J Ren Care* 2009;35(Suppl. 1):79–83.
- (14) Rufino M, de Bonis E, Martin M, Rebollo S, Martin B, Miquel R. Is it possible to control hyperphosphatemia with diet, without inducing protein malnutrition? *Nephrol Dial Transplant* 1998;13(Suppl. 3):65–7.

- (15) Nakano C, Hamano T, Fujii N, Matsui I, Tomida K, Mikami S. Combined use of vitamin D status and FGF23 for risk stratification of renal outcome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7:810–9
- (16) Moranne O, Froissart M, Rossert J, Gauci C, Boffa JJ, Haymann JP. Timing of onset of CKD-related metabolic complications. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:164–71.
- (17) Souberbielle JC, Boutten A, Carlier MC, Chevenne D, Coumaros G, Lawson-Body E. Inter-method variability in PTH measurement : implication for the care of CKD patients. *Kidney Int* 2006;70:345–50
- (18) Roman-Garcia P, Carrillo-Lopez N, Cannata-Andia JB. Pathogenesis of bone and mineral related disorders in chronic kidney disease : key role of hyper-phosphatemia. *J Ren Care* 2009;35(Suppl. 1):34–8.
- (19) Llach F. Secondary hyperparathyroidism in renal failure : the trade-off hypothesis revisited. *Am J Kidney Dis* 1995;25:663–79.
- (20) Nazanin N, John J, Joel D, Anuja S, Colman S, Christian S. Organic and Inorganic Dietary Phosphorus and Its Management in Chronic Kidney Disease. *IJKD* 2010;4:89-100.
- (21) Young EW, Akiba T, Albert JM, et al. Magnitude and impact of abnormal mineral metabolism in hemodialysis patients in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Am J Kidney Dis*. 2004;44:34-8.
- (22) Chertow GM, Burke SK, Raggi P. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2002;62:245-52.
- (23) Kalantar-Zadeh K, Gutekunst L, Mehrotra R, et al. Understanding Sources of Dietary Phosphorus in the Treatment of Patients with Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010.
- (24) Shinaberger CS, Greenland S, Kopple JD, et al. Is controlling phosphorus by decreasing dietary protein intake beneficial or harmful in persons with chronic kidney disease? *Am J Clin Nutr*. 2008;88:1511-8.
- (25) National Kidney Foundation I, Kidney Disease-Dialysis Outcome Quality Initiative. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis*. 2003;42:S1-S202
- (26) Shinaberger CS, Kilpatrick RD, Regidor DL, et al. Longitudinal associations between dietary protein intake and survival in hemodialysis patients. *Am J Kid Dis*. 2006;48:37-49
- (27) Oenning LL, Vogel J, Calvo MS. Accuracy of methods estimating calcium and phosphorus intake in daily diets. *J Am Diet Assoc*. 1988;88:1076-80.
- (28) Noori N et al. Organic and inorganic dietary phosphorus and its management in chronic kidney disease. *Iran J Kidney Dis*. (2010)

- (29) Kwon WB, Kim BG. Standardized total tract digestibility of phosphorus in various inorganic phosphates fed to growing pigs. Anim Sci J. 2017 Jun;88(6):918-924.
- (30) Moore LW, Nolte JV, Gaber AO, Suki WN. Association of dietary phosphate and serum phosphorus concentration by levels of kidney function. Am J Clin Nutr. 2015 Aug;102(2):444-53.
- (.31) Biruete A, Jeong JH, Barnes JL, Wilund KR. Modified Nutritional Recommendations to Improve Dietary Patterns and Outcomes in Hemodialysis Patients. J Ren Nutr. 2017 Jan;27(1):62-70.

ANNEXES

ENQUETE DIETETIQUE AU PROFIS DES MALADES DU CENTRE D'HEMODIALYSE EL GHASSANI DE FES.

- ❖ **Q1 : HABITUELLEMENT, MANGEZ-VOUS DU PAIN BLANC, PAIN COMPLET, MLAOU, HARCHA, CHAQUE JOUR ?**

Si oui : quelle quantité et combien de fois en mangez-vous par jour ?

- a. 1 fois (en gramme)
- b. 2 fois (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- 4 fois et plus (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)

Si non : combien de fois en mangez-vous ?

- a. 4 à 6 fois par semaine (en gramme)
- b. 2 à 3 fois par semaine (en gramme)
- c. Une fois par semaine ou moins (en gramme)
- d. Jamais

- ❖ **Q2 : HABITUELLEMENT, MANGEZ-VOUS DU RIZ, DES PATES, DES POMMES DE TERRE, DE LA SEMOULE OU DU MAÏS CHAQUE JOUR ?**

Si oui : quelle quantité et combien de fois en mangez-vous par jour ?

- a. 1 fois (en gramme)
- b. 2 fois (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- d. 4 fois et plus (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)

Si non : combien de fois en mangez-vous ?

- a. 4 à 6 fois par semaine (en gramme)
- b. 2 à 3 fois par semaine (en gramme)
- c. Une fois par semaine ou moins (en gramme)
- d. Jamais

- ❖ **Q3 : HABITUELLEMENT, MANGEZ-VOUS DES LEGUMES SECS (HARICOTS SECS, LENTILLES, POIS CHICHES ETC.) CHAQUE SEMAINE ?**

Si oui : quelle quantité et combien de fois en mangez-vous par jour ?

- a. 1 fois (en gramme)
- b. 2 fois (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- d. 4 fois et plus (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)

Si non : combien de fois en mangez-vous ?

- a. 4 à 6 fois par semaine (en gramme)
- b. 2 à 3 fois par semaine (en gramme)
- c. Une fois par semaine ou moins (en gramme)
- d. Jamais

❖ **Q4 :HABITUELLEMENT, MANGEZ-VOUS DES PRODUITS LAITIERS CHAQUE JOUR ?**

Si oui : quelle quantité et combien de fois en mangez-vous par jour ?

- a. 1 fois (en gramme)
- b. 2 fois (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- d. 4 fois et plus (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)

Si non : combien de fois en mangez-vous ?

- a. 4 à 6 fois par semaine (en gramme)
- b. 2 à 3 fois par semaine (en gramme)
- c. Une fois par semaine ou moins (en gramme)
- d. Jamais

❖ **Q5 : HABITUELLEMENT, CONSOMMEZ-VOUS DES FRUITS (Y COMPRIS DES JUS DE FRUITS 100% PUR JUS) CHAQUE JOUR ?**

Si oui : quelle quantité et combien de fois en mangez-vous par jour ?

- a. 1 fois (en gramme)
- b. 2 fois (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- d. 4 fois et plus (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)

Si non : combien de fois en mangez-vous ?

- a. 4 à 6 fois par semaine (en gramme)
- b. 2 à 3 fois par semaine (en gramme)
- c. Une fois par semaine ou moins (en gramme)
- d. Jamais

❖ **Q6 :HABITUELLEMENT, MANGEZ-VOUS DE LA VIANDE ROUGE , DE LA VOLAILLE, MORTADELLE D'INDYOU DES ŒUFS CHAQUE JOUR?**

Si oui : quelle quantité et combien de fois en mangez-vous par jour ?

- a. 1 fois (en gramme)
- b. 2 fois (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- d. 4 fois et plus (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)

Si non : combien de fois en mangez-vous ?

- a. 4 à 6 fois par semaine (en gramme)
- b. 2 à 3 fois par semaine (en gramme)
- c. Une fois par semaine ou moins (en gramme)

d. Jamais

❖ **Q7 : HABITUELLEMENT, MANGEZ-VOUS DU POISSON EN CONSERVE, THON CHAQUE SEMAINE ?**

Si oui : quelle quantité et combien de fois en mangez-vous par jour ?

- a. 1 fois (en gramme)
- b. 2 fois (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- d. 4 fois et plus (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)

Si non : combien de fois en mangez-vous ?

- a. 4 à 6 fois par semaine (en gramme)
- b. 2 à 3 fois par semaine (en gramme)
- c. Une fois par semaine ou moins (en gramme)
- d. Jamais

❖ **Q8 : HABITUELLEMENT, MANGEZ-VOUS DES PLATS PRETS A CONSOMMER (OU PLATS « PREPARES ») QU'ILS SOIENT FRAIS, SURGELES OU EN CONSERVE CHAQUE JOUR?**

Si oui : quelle quantité et combien de fois en mangez-vous par jour ?

- a. 1 fois (en gramme)
- b. 2 fois (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- d. 4 fois et plus (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)

Si non : combien de fois en mangez-vous ?

- a. 4 à 6 fois par semaine (en gramme)
- b. 2 à 3 fois par semaine (en gramme)
- c. Une fois par semaine ou moins (en gramme)
- d. Jamais

❖ **Q9 : HABITUELLEMENT, À QUELLE FREQUENCE MANGEZ-VOUS DU CHOCOLAT PAR SEMAINE ?**

Si oui : veuillez citer votre barre chocolatée préférée ?

- a. 1 fois / semaine (en gramme)
- b. 2 fois/ semaine (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois / semaine (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- d. chaque jours (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)

Marque préférée :

❖ **Q10 : A LA PREPARATION DE VOS PLATS, UTILISEZ-VOUS DES TOMATES EN CONSERVES, OU PLUTOT DES TOMATES NATURELLES ???**

SI oui quelle marque péférée ?

- a. Tomates naturelles
- b. Tomates en conserves,

Marque préférée ?

Validation d'un Protocole de dosage du phosphore inorganique par la spectrophotométrie UV

- ❖ **Q11 : EN PREPARANT VOS RECETTES PREFEREES, UTILISEZ VOUS DES ASSAISONNEMENTS INDUSTRIELS ??**

- a. Non
- b. Oui

Marque préférée ?.....

- ❖ **Q12 : A QUELLE FREQUENCE PAR SEMAINE, ET A QUELLE QUANTITE CONSOMMEZ-VOUS LES OLIVES EN CONSERVES ?**

- a. 1 fois /semaine (en gramme)
- b. 2 fois / semaine (en gramme) (en gramme)
- c. 3 fois / semaine (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- d. 4 fois et plus (en gramme) (en gramme) (en gramme) (en gramme)
- e. Jamais

- ❖ **Q13 : A QUELLE FREQUENCE CONSOMMEZ-VOUS DES BOISSONS GAZEUSES ?**

- a. jamais
- b. 1 fois / semaine (en ml)
- c. 2 fois/ semaine (en ml) (en ml)
- d. 3 fois / semaine (en ml) (en ml) (en ml)
- e. 4 fois et plus (en ml) (en ml) (en ml) (en ml)

Si oui citez vos deux marques préférées.....

- ❖ **Q14 : A QUELLE FREQUENCE CONSOMMEZ-VOUS DES JUS INDUSTRIELS ?**

- a. jamais
- b. 1 fois / semaine (en ml)
- c. 2 fois/ semaine (en ml) (en ml)
- d. 3 fois / semaine (en ml) (en ml) (en ml)
- e. 4 fois et plus (en ml) (en ml) (en ml) (en ml)

Si oui citez vos deux marques préférées.....

Tableau3 : Concentration retrouvée par la prédiction inverse.

	Répétition	Niveau	DO	Concentration Retrouvée	% de recouvrement	Biais Absolu	Biais Relatif (%)
Série1	1	2	1,109	1,85	92,40	-0,15	-7,60
Série1	2	2	1,069	1,78	89,15	-0,22	-10,85
Série 1	3	2	1,029	1,72	85,90	-0,28	-14,10
Série2	1	2	1,075	1,82	91,17	-0,18	-8,83
Série2	2	2	1,043	1,77	88,52	-0,23	-11,48
Série 2	3	2	1,055	1,79	89,52	-0,21	-10,48
Série3	1	2	1,026	1,74	87,17	-0,26	-12,83
Série3	2	2	1,067	1,81	90,64	-0,19	-9,36
Série 3	3	2	1,105	1,88	93,86	-0,12	-6,14
Série1	1	1,3	0,768	1,29	99,54	-0,01	-0,46
Série1	2	1,3	0,706	1,19	91,79	-0,11	-8,21
Série 1	3	1,3	0,798	1,34	103,29	0,04	3,29
Série2	1	1,3	0,747	1,26	96,92	-0,04	-3,08
Série2	2	1,3	0,743	1,25	96,42	-0,05	-3,58
Série 2	3	1,3	0,805	1,35	104,16	0,05	4,16
Série3	1	1,3	0,801	1,36	104,82	0,06	4,82
Série3	2	1,3	0,773	1,32	101,18	0,02	1,18
Série 3	3	1,3	0,72	1,23	94,28	-0,07	-5,72
Série1	1	0,6	0,318	0,56	93,84	-0,04	-6,16
Série1	2	0,6	0,385	0,67	111,98	0,07	11,98
Série 1	3	0,6	0,38	0,66	110,62	0,06	10,62
Série2	1	0,6	0,39	0,68	113,33	0,08	13,33
Série2	2	0,6	0,351	0,62	102,77	0,02	2,77
Série 2	3	0,6	0,37	0,65	107,92	0,05	7,92
Série3	1	0,6	0,344	0,59	98,21	-0,01	-1,79
Série3	2	0,6	0,312	0,54	89,19	-0,06	-10,81
Série 3	3	0,6	0,36	0,62	102,72	0,02	2,72

Tableau 4 : Récapitulatif des critères de validation du profil d'exactitude.

Limite d'acceptabilité (λ)	80%		
Probabilité tolérance (β)	15%		
	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Concentration moyenne théorique	0,6	1,3	2
Concentration moyenne retrouvée	0,62	1,31	1,81
Fidélité			
Ecart-type de répétabilité (sr)	0,05	0,05	0,04
Ecart-type inter-séries (sB)	0,03	0,02	0,02
Ecart-type de fidélité (sFI)	0,05	0,05	0,05
Coefficient de variation repetabilité	7,72	3,87	2,23
Coefficient de variation de fidélité	9,05	4,18	2,46
Justesse			
Biais (%)	-3,86	-0,56	9,62
Intervalle de tolérance			
Nombre de degrés liberté	5,81	6,85	6,60
Facteur de couverture (kIT)	1,45	1,42	1,42
Ecart-type de tolérance (sIT)	0,06	0,06	0,05
Limite intervalle tolérance basse	0,54	1,22	1,73
Limite intervalle tolérance haute	0,71	1,39	1,88
Limite d'acceptabilité basse	0.51	11.05	1.7
Limite d'acceptabilité haute	0.69	14.95	2.3
Profil d'exactitude			
%Recouvrement	103,86	100,56	90,38
Limite intervalle tolérance basse en %	89,69	94,22	86,63
Limite intervalle tolérance haute en %	118,04	106,90	94,13
Limite d'acceptabilité basse en %	85,00	85,00	85,00
Limite d'acceptabilité haute en %	115,00	115,00	115,00
Limite d'acceptabilité basse	0,51	1,11	1,70
Limite d'acceptabilité haute	0,69	1,50	2,30