

Réactif des Protéines Totales

Méthode du Biuret

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	Jusqu'à péremption à 2-25°C
Limites de linéarité	:	Jusqu'à 150 g/L (15 g/dL)
Nature de l'échantillon	:	Sérum, plasma
Méthode	:	Point final
Préparation du réactif	:	Fourni prêt à l'emploi.

IVD

UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro des protéines totales dans le sérum ou le plasma humain sur des analyseurs de biochimie automatiques ou manuels.

INTÉRÊT CLINIQUE¹

Le total des protéines sert à suivre des changements globaux des niveaux de protéines provoqués par différents états des maladies. Ce dosage est habituellement effectué en association avec d'autres tests tels que l'albumine du sérum, les tests fonctionnels du foie ou l'électrophorèse des protéines. Un taux albumine/globuline est souvent calculé pour obtenir plus d'informations. Les niveaux augmentent en cas de déshydratation, de myélome multiple et de maladies chroniques du foie, ils baissent en cas de maladie rénale et de défaillance terminale du foie.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les méthodes conçues pour la détermination des protéines totales incluent la mesure de la densité, de l'indice de réfraction, de l'absorbance de la lumière dans le domaine ultraviolet et la réaction des protéines avec les réactifs de Folin et de Ciocalteu.

Le total des protéines a été historiquement déterminé pour la première fois par la méthode de Kjeldahl qui reste toujours une méthode de référence. La réaction du biuret est utilisée depuis la fin du dix-neuvième siècle, c'est la méthode préférée des laboratoires cliniques par sa simplicité, rapidité et fiabilité. De nombreuses modifications de la méthode du biuret ont été proposées, le réactif utilisé dans cette procédure est basé sur les travaux de Goodwin et al², Flack et Woollen.³ Les liaisons peptides des protéines réagissent avec les ions cuivre II dans une solution alcaline pour former un composé bleu violet (la réaction du biuret), chaque ion cuivre s'associe avec 5 ou 6 liaisons peptides.⁴ On ajoute du tartrate comme stabilisant et l'iodide évite l'autoréduction du composé cuivreux alcalin. La couleur obtenue est proportionnelle à la concentration en protéines et se mesure entre 520 et 560 nm. Pour les analyseurs bichromatiques, la longueur d'onde blanche doit être réglée entre 600 et 700 nm.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs	Concentration
Sulfate de cuivre II	12 mmol/L
Tartrate sodique de potassium	32 mmol/L
Iodide de potassium	30 mmol/L
Hydroxyde de sodium	600 mmol/L
pH 13,5 ± 0,1 à 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 sur le Réactif des Protéines Totales contient des informations plus détaillées.

R34	Provoque des brûlures.
S24/25	Éviter le contact avec la peau et les yeux.
S26	En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le réactif est fourni prêt à l'emploi.











STABILITÉ ET CONSERVATION

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-25°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité;
- Présence d'un précipité;
- Absorbance du réactif >0,200 AU à 540 nm; et/ou
- Impossibilité de retrouver les valeurs de contrôle dans la plage affectée.

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

 Représentant Autorisé	 Limites de température
 Utilisation en diagnostique in vitro	 Utiliser jusque
 Numéro de lot	 ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
 Référence catalogue	 Fabriqué par
 Consulter les instructions d'utilisation	 C - Corrosif

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS²

Sérum : Utiliser un sérum non hémolysé.

Plasma : Utilisez de l'héparine.

Stockage : Les échantillons de protéines totales peuvent être stockés au moins 7 jours à la température ambiante (18-25°C) et au moins 1 mois à 4°C.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer l'absorbance entre 540 nm (520 nm - 560 nm).
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Matériau de contrôle de dosage normal et anormal.
- Étalon ou standard de protéines totales adéquat.

PROCÉDURE DE DOSAGE

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

PARAMETRAGE DU SYSTÈME

Température	37°C
Longueur d'onde principale	540 nm (520-560 nm)
Type de dosage	Point final
Sens	Augmentation
Echantillon : Taux de réactif	1 : 150
p. ex. : Vol. échantillon	5 µL
Vol. réactif	250 µL
Temps d'incubation	600 secondes
Limites du réactif blanc	Basse 0,0 AU
(540 nm, chemin lumineux 1cm)	Haute 0,2 AU
Linéarité	150 g/L (15 g/dL)
Sensibilité Analytique	5,5 ΔmA par g/L
(540 nm, chemin lumineux 1cm)	0,055 ΔA par g/dL

CALCULS

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

$$\text{Protéines totales} = \frac{\text{Absorbance de l'inconnu}}{\text{Absorbance de l'étalon}} \times \text{Valeur de l'étalon}$$

Exemple:

Absorbance de l'étalon	=	0,319
Absorbance de l'inconnu	=	0,396
Valeur de l'étalon	=	58 g/L (5,8 g/dL)

$$\text{Protéines totales} = \frac{0,396}{0,319} \times 58 = 72 \text{ g/L}$$

$$\text{Protéines totales} = \frac{0,396}{0,319} \times 5,8 = 7,2 \text{ g/dL}$$

REMARQUES

1. Les volumes de réactif et d'échantillon peut être modifié en proportion pour s'adapter aux prescriptions de divers spectrophotomètres.
2. Facteur de conversion des unités S.I. : g/L x 0,1 = g/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 or 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 utilisée.
- 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. Les études de détermination du niveau d'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie ont été effectuées sur un analyseur de biochimie automatique. Les résultats suivants ont été obtenus :
Hémoglobine : aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 265 mg/dL.
Bilirubine libre : Aucune interférence avec la bilirubine jusqu'à 211 µmol/L (12,3 mg/dL).
Bilirubine conjuguée : Aucune interférence avec la bilirubine jusqu'à 211 µmol/L (12,3 mg/dL).
Lipémie : Aucune interférence avec la lipémie, lors d'une mesure bichromatique par une absorbance à 630 nm, jusqu'à 1,046 AU.
2. Young DS⁵ a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES

60 - 83 g/L (6,0 - 8,3 g/dL)⁴

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.⁶

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif des protéines totales 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 suivante⁷.

Pendant l'opération:	Niveau I	Niveau II
Nombre de mesures	80	80
Moyenne (g/L)	58	49
Moyenne(g/dL)	5,8	4,9
SD (g/L)	0,8	0,6
SD (g/dL)	0,08	0,06
CV (%)	1,4	1,3
Total:	Niveau I	Niveau II
Nombre de mesures	80	80
Moyenne (g/L)	58	49
Moyenne (g/dL)	5,8	4,9
SD (g/L)	1,9	1,6
SD (g/dL)	0,19	0,16
CV (%)	3,2	3,2

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un autre réactif des protéines totales du commerce similaire comme référence. Des échantillons de plasma et de sérum (héparine) ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre d'échantillons en double	60
Plage de mesures des échantillons	21-92 g/L (2,1-9,2 g/dL)
Moyenne des mesures (référence)	71,8 g/L (7,18 g/dL)
Moyenne des résultats du réactif des protéines totales	71,5 g/L (7,15 g/dL)
Pente	0,955
Coordonnées à l'origine	2,9 g/L (0,29 g/dL)
Coefficient de Corrélation	0,9844

LINÉARITÉ

Utilisé selon les prescriptions, le dosage est linéaire entre 0 et 150 g/L (0-15 g/dL).

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

S'il est effectué selon les recommandations, la sensibilité du présent dosage est de 5,5 ΔmA par g/L (0,055 ΔA par g/dL).

RÉFÉRENCES

1. Tietz N.W. (Ed.), Textbook of Clinical Chemistry, W.B Saunders 1986; p579.
2. Goodwin J.F., et al, Automation in Anal. Chem, Technicon Sympolsia 1965, p.315-320.
3. Flack C.P. and Woollen J.W., Clin. Chem., 30, 559 (1984).
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis (4th Ed.) Burtis, Ashwood & Bruns (Eds), Elsevier Saunders, 2005; 2293
5. Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:292-301.
6. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Laboratory 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



REF

Information Commandes

No de Catalogue	Configuration
TR34021/1700-250	2 x 125 mL
TR34026/1700-500	2 x 250 mL
TR34098/1700-1L	2 x 500 mL
1700-400H	4 x 100 mL (Hitachi)
TL34001	8 x 100 mL (iLab 600)
TY34001	4 x 50 mL (Hitachi)

© 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.