

Réactif du Microprotéine

Méthode du Chlorure de Benzethonium

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	Jusqu'à péremption à 2-25°C
Limites de linéarité	:	0,05 - 2,0 g/L (50 - 2000 mg/L)
Nature de l'échantillon	:	Urine ou CSF
Méthode	:	Turbidimétrique
Préparation du réactif	:	Fourni prêt à l'emploi.

IVD

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

EC REP	Représentant Autorisé		Limites de température
IVD	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
LOT	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
REF	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		
	Xi - Irritant		
REAG 1	Réactif 1	REAG 2	Réactif 2

UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est destiné à la quantification in vitro des protéines dans l'urine et le fluide cérébro-spinal (CSF) pour les systèmes manuels et automatisés.

INTERET CLINIQUE^{1,2}

Le rôle du système rénal dans la conservation des protéines du plasma est reconnu depuis un certain temps. Dans des conditions physiologiques normales, les protéines de poids moléculaire faible, telles que l'insuline, traversent les glomérules en quantité relativement importante. Les protéines de taille intermédiaires, comme la transferrine et l'albumine, traversent également mais seulement en quantité un peu relativement faibles.

La plupart de ces protéines sont réabsorbées dans les tubules rénaux de telle façon que l'urine normale contienne moins de 150 mg de protéines par jour. Ceci inclut également les protéines ne provenant pas du sérum sécrétées normalement par le tubule distal (muco-protéines) et les canaux de collecte. L'augmentation du niveau de protéine urinaire, (protéinurie) habituellement au-delà de 0,15 g par 24 heures (150 mg/24 heures), indique presque toujours une maladie.

La protéinurie peut être classée comme protéinurie rénale ou protéinurie avec fonction rénale normale. La protéinurie rénale peut être en outre classée comme protéinurie glomérulaire ou tubulaire. La protéinurie glomérulaire est due à un accroissement de la perméabilité glomérulaire (syndrome néphrotique) et peut se voir dans la néphrite glomérulaire ou secondaire ou dans d'autres maladies telles que la néphropathie diabétique. L'albumine est habituellement la protéine prédominante dans l'urine. La protéinurie tubulaire peut être due à des dommages tubulaires rénaux de tous ordres en particulier dus à une pyélonéphrite. La protéinurie tubulaire induit des augmentations modestes des protéines à faible poids moléculaire si la perméabilité glomérulaire est normale. La protéinurie avec fonction rénale normale peut être le résultat d'augmentations physiologiques de l'excrétion des protéines ou de la production de quantités anormalement élevées de protéines à faible poids moléculaire. Une augmentation de l'excrétion des protéines se voit pendant une grossesse normale, après un exercice épuisant ou si la station debout est maintenue longtemps. L'accroissement des protéines à faible poids moléculaire peut être du à la production de la protéine de Bence Jones, à une hémoglobinurie, en raison d'une hémolyse grave et à la myoglobinurie, si des muscles sont gravement endommagés.

PRINCIPE DE LA METHODE

Les méthodes utilisées pour la quantification des protéines totales dans l'urine incluent la liaison à un colorant, les procédés chimiques et turbidimétriques, cette dernière étant la technique la plus généralement utilisée³. La popularité des procédures turbidimétriques peut être attribuée à la simplicité d'emploi et à une sensibilité accrue.

Le kit pour microprotéine Thermo est une procédure turbidimétrique dans laquelle le chlorure de benzethonium sert comme agent de dénaturation de la protéine. Les protéines présentes dans l'urine sont dénaturées par le chlorure de benzethonium, ce qui entraîne la formation d'une suspension fine dosée par turbidimétrie à 405 nm. Le réactif a été modifié pour surmonter le problème de l'effet d'une concentration élevée (crochet), dans lequel les concentrations très élevées de protéines dans l'urine peuvent induire une lecture apparente nulle ou faible⁴.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs

Réactif 1 :

Tampon de carbonate	99,8 mmol/L
Chlorure de sodium	140 mmol/L
EDTA	32 mmol/L

Réactif 2 :

Chlorure de benzethonium	20 g/L
--------------------------	--------

Concentration

Les réactifs contiennent également les surfactants et stabilisants nécessaires aux performances optimales du réactif.

PRECAUTIONS: NE PAS pipeter à la bouche. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Le réactif contient de l'azotate de sodium qui peut réagir avec des canalisations en cuivre ou en plomb. Rincer abondamment à l'eau lors du rebut. La fiche de sécurité du Réactif du Microprotéine contient des informations plus détaillées.

R36 Irritant pour les yeux.
S23 Ne pas respirer les vapeurs.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Stockés entre 2 et 25 °C, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon et de la boîte du kit.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons d'urine stockés à 4°C sont stables pendant 2 à 3 jours⁵. Si un délai est prévu lors du transport jusqu'au laboratoire, l'utilisation d'un conservateur chimique tel que le merthiolate (0,24 mmol/L) est recommandée.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante et de mesurer l'absorbance entre 405 et 415 nm.
- Consommables spécifiques à l'analyseur, p. ex. coupelles à échantillons.
- Matériau de contrôle dosé normal et anormal.
- Des étalons de protéine d'urine tels que les étalons de microprotéines Thermo (réf. catalogue : TR50943).

PROCÉDURE DE DOSAGE

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

PARAMÈTRES DU SYSTÈME

Température	Constante (Voir note 2)
Longueur d'onde principale	405 nm (405-415 nm)
Type de dosage	Turbidimétrique
Direction	Augmentation
Échantillon : Taux de réactif	1 : 45
p. ex. : Vol. échantillon	8 µL
Réactif 1 Vol.	300 µL
Réactif 2 Vol.	60 µL
Retard le temps (échantillon + R1)	30 secondes
Temps d'incubation	360 secondes
Limites du réactif blanc	Basse 0,00 AU
(405 nm, chemin lumineux 1cm)	Haute 2,00 AU
Linéarité	0,05 - 2,0 g/L (50 - 2000 mg/L)

CALCUL DES RÉSULTATS

Les résultats, exprimés en g/L ou mg/L, sont automatiquement calculés.

EXCRÉTIIONS URINAIRES DE PROTÉINES SUR 24 HEURES

- Mesurer et enregistrer le volume d'urine sur 24 heures en litres.
- Déterminer la concentration en protéines en g/L ou mg/L en utilisant la procédure ci-dessus.
- Multiplier la concentration en protéines par le volume d'urine sur 24 heures. Cette valeur représente l'excrétion de protéines sur 24 heures.

Exemple :

volume d'urine sur 24 heures = 1,12 litre
 Concentration de protéines dans l'urine = 0,13 g/L ou 130 mg/L

Excrétions urinaires de protéines sur 24 heures

0,13 x 1,12 = 0,146 g/24 heures
 130 x 1,12 = 146 mg/24 heures.

REMARQUES

1. Les volumes de réactifs et d'échantillon peuvent être modifiés en respectant leur proportionnalité afin de s'adapter aux caractéristiques de chaque analyseur de biochimie.
2. La température de la réaction n'est pas critique, mais la température du spectrophotomètre doit rester constante entre la température ambiante et 37°C.
3. L'absorbance finale doit être mesurée dans un délai de 10 minutes.
4. Conversion d'unité : g/L x 1000 = mg/L

CALIBRAGE

Des étalons de protéine d'urine du commerce tels que les étalons de microprotéines Thermo (réf. catalogue : TR50943) doivent être utilisés pour l'étalonnage. Thermo recommande l'étalonnage à chaque session avec au moins 5 étalons, référencés par rapport au matériau NIST et dans une plage de valeurs de 0,1 à 2,4g/L (100 à 2400 mg/L). 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 toutes les huit heures
- Lorsqu'une nouveau flacon de réactif est utilisée.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

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. Aucun effet de « crochet » n'a été observé avec des échantillons contenant des concentrations en protéine jusqu'à 60 g/L.
2. La publication de Young examine plus en détail les facteurs affectant le dosage des protéines de l'urine.⁶
3. On a observé une interférence avec l'hémoglobine à 20 mg/dL.
4. Aucune interférence de la bilirubine jusqu'à 26 µmol/L (1,5 mg/dL).

VALEURS ATTENDUES

L'excrétion urinaire des protéines est normalement inférieure à 0,15 g/24 heures (150 mg/24 heures). Les valeurs supérieures indiquent presque toujours une maladie¹.

Les valeurs indiquées ne représentent que la plage prévue pour cette méthode et ne sont que des indications. Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier sa plage ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il sert.⁷

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le Réactif du Microprotéine sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs doivent établir les performances du produit sur leur propre analyseur.

IMPRÉCISION

Pendant l'opération:	Niveau I	Niveau II	Niveau III
Nombre de mesures	20	20	20
Moyenne (g/L / mg/L)	0,184 / 184	0,510 / 510	1,750 / 1750
SD (g/L / mg/L)	0,009 / 9	0,024 / 24	0,034 / 34
CV (%)	4,9	4,7	1,9

D'un jour à l'autre:	Niveau I	Niveau II	Niveau III
Nombre de mesures	20	20	20
Moyenne (g/L / mg/L)	0,182 / 182	0,505 / 505	1,757 / 1757
SD (g/L / mg/L)	0,010 / 10	0,022 / 22	0,029 / 29
CV (%)	5,5	4,4	1,7

COMPARAISON DE MÉTHODES

Des études comparatives ont été menées avec une autre méthode au chlorure de benzethonium du commerce comme référence. Des échantillons d'urine normaux et anormaux ont été dosés en parallèle et les résultats ont été comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre d'échantillons en double	63
Plage de mesures des échantillons	0,01 - 1,58 g/L (10 - 1580 mg/L)
Moyenne des mesures (référence)	0,42 g/L (420 mg/L)
Moyenne des résultats (Microprotéine)	0,44 g/L (440 mg/L)
Pente	1,14
Coordonnées à l'origine	-0,04 g/L (-40 mg/L)
Coefficient de Corrélation	0,992

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 2,0 g/L (2000 mg/L).

SENSIBILITÉ

Utilisé selon la procédure recommandée, le réactif est sensible à un niveau de 0,05 g/L (50 mg/L).

RÉFÉRENCES

1. Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Proteins and Immunoglobulins" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke 1979; Chap XIV:305-29.
2. First MR. "Renal Function" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 23:418.
3. Koller A. "Total Urine Protein" in Clinical Chemistry theory, analysis and correlation Kaplan LA, Amadeo JP (Ed). CV Mosby Co. 1984; Chap 60: 1319-20.
4. Watkins I, Jenkins L. Clinical Chemistry 1987; 33:21 27-8.
5. Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clinical Biochemist 1983; 4: 61-7.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition 1990; 3: 296-300.
7. Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.



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



© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF	Information Commandes	
No de Catalogue	REAG 1	REAG 2
TR50001	1 x 125 mL	1 x 25 mL