

ABX Pentra Total Protein CP

■ Pentra C400

REF A11A01669

REAGENT 61 mL

IVD CE

HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE



Réactif de diagnostic pour le dosage quantitatif *in vitro* de la protéine totale dans le sérum ou le plasma par colorimétrie.

Version des applications

Sérum, plasma : TP_R (ne pas utiliser aux États-Unis)

1.xx

Domaine d'utilisation

Le réactif **ABX Pentra Total Protein CP** est destiné au dosage quantitatif *in vitro* de la protéine totale dans le sérum et le plasma par colorimétrie.

Les dosages obtenus par ce dispositif sont utilisés dans le diagnostic et le traitement d'un certain nombre de maladies impliquant le foie, les reins ou la moelle osseuse ainsi que d'autres troubles métaboliques ou nutritionnels.

Intérêt clinique (1, 2)

Le plasma sanguin est une solution concentrée de protéines constituée à 60% d'albumine. Considérées dans leur ensemble, les protéines plasmatiques effectuent des tâches très diverses allant du maintien de la pression oncotique au transport de molécules variées. Elles sont impliquées dans les mécanismes complexes de la coagulation sanguine et des réactions immunitaires au travers des anticorps. Des enzymes, en faibles concentrations, constituent un des divers groupes de protéines. Une augmentation de leur activité est un indicateur fiable d'atteintes cellulaires.

Les variations du taux de protéines global représentent donc une valeur d'orientation du diagnostic qui devrait toutefois être complétée par un bilan plus spécifique.

Les hypoprotéinémies reflètent de faibles taux en albumine liés à une perte protéique rénale anormale, un dysfonctionnement de la synthèse des protéines (insuffisance hépatique) ou une maladie liée à des carences.

Les hyperprotéinémies sont notoirement observées en relation avec des symptômes de déshydratation mais elles peuvent aussi résulter de dysglobulinémie ou d'un myélome.

Méthode

Test colorimétrique pour le dosage quantitatif des protéines totales dans le sérum et le plasma. Cette méthode en point final simple, rapide et précise a été développée et améliorée par Gornall *et al.* (1949) (3) en utilisant la réaction Biuret.

La réaction Biuret a préalablement été étudiée, simplifiée en utilisant un réactif de travail unique (4) et améliorée en augmentant la stabilité du réactif Biuret par l'adjonction d'éthylène glycol (5), de tartrate (6) ou de citrate (7).

Cette méthodologie est basée sur la formation, dans une solution alcaline et en présence d'ions de cuivre, d'un complexe caractéristique de couleur pourpre entre le Biuret ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$) et deux connexions peptiques consécutives.

Le complexe de coordination ainsi obtenu absorbe principalement dans la couleur bleue. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en protéines.



NB : Le tartrate de sodium et de potassium évite la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'iodure de potassium empêche l'auto-réduction du cuivre.

Réactifs

ABX Pentra Total Protein CP est prêt à l'emploi.

ABX Pentra Total Protein CP

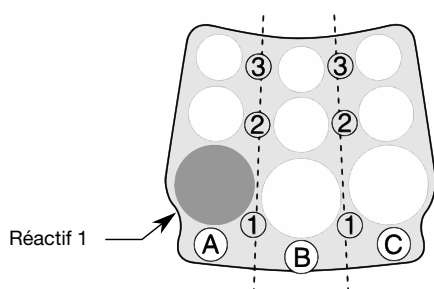
Réactif :

Iodure de potassium	6 mmol/L
Tartrate de sodium et de potassium	21 mmol/L
Sulfate de cuivre	6 mmol/L
Hydroxyde de sodium	58 mmol/L

ABX Pentra Total Protein CP doit être utilisé conformément à la présente notice. Le fabricant ne peut garantir son efficacité si ces conditions ne sont pas respectées.

Manipulation dans le portoir

1. Transvaser le volume de réactif nécessaire pour une journée de travail dans un flacon à réactif de 15, 10 ou 4 mL.
2. Placer le flacon dans la position 1 dans l'un des emplacements disponibles.
Veuillez utiliser l'une des possibilités suivantes :
 - un flacon de réactif de 15 mL
 - un flacon de réactif de 10 mL + un adaptateur spécifique
 - un flacon de réactif de 4 mL + un adaptateur spécifique



3. En cas de présence de mousse, la retirer en utilisant une pipette en plastique.
4. Placer le portoir de réactifs dans le compartiment de réactif réfrigéré du Pentra C400.

Remarque importante : éliminer le réactif restant à la fin de la journée.

Calibrant

Pour la calibration, utiliser :
ABX Pentra Multical (A11A01652) (non inclus)
 10 x 3 mL (lyophilisat)

Contrôle ^a

Pour le contrôle qualité interne, utiliser :

- **ABX Pentra N Control / ABX Pentra N MultiControl** (A11A01653 / 1300054414) (non inclus)
10 x 5 mL (lyophilisat)
- **ABX Pentra P Control / ABX Pentra P MultiControl** (A11A01654 / 1300054415) (non inclus)
10 x 5 mL (lyophilisat)

Chaque contrôle doit être testé quotidiennement et/ou après chaque calibration.

La fréquence des contrôles et les intervalles de confiance doivent être adaptés aux exigences du laboratoire et aux directives spécifiques de votre pays. Pour tester des matériels de contrôle de qualité, vous devez suivre les directives fédérales, nationales et locales. Les résultats doivent être situés entre les limites de confiance définies. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

Matériels nécessaires mais non fournis ^a

- Analyseur de biochimie : Pentra C400
- Étalon : **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Contrôles :
 - ABX Pentra N Control / ABX Pentra N MultiControl** (A11A01653 / 1300054414)
 - ABX Pentra P Control / ABX Pentra P MultiControl** (A11A01654 / 1300054415)
- Equipement standard de laboratoire.

Échantillon

- Sérum non hémolysé.
- Plasma recueilli sur héparine de lithium.

Les anticoagulants ne figurant pas dans cette liste n'ont pas été testés par HORIBA Medical. Par conséquent, leur utilisation avec ce dosage n'est pas recommandée.

Remarque : L'intervalle de référence choisi dépend du choix de matrice de l'utilisateur.

Se référer au paragraphe Intervalle de référence.

^aModification : nouveau contrôle.

ABX Pentra Total Protein CP

Stabilité (1) :

- Dans un tube fermé à température ambiante : jusqu'à 1 semaine
- De 4 à 8°C : jusqu'à 1 mois
- À l'état congelé : > 1 an

Intervalle de référence

Chaque laboratoire doit établir ses propres intervalles de référence. Les valeurs mentionnées dans cette notice sont uniquement données à titre indicatif.

Valeurs pour les échantillons de sérum (2) :

Patients ambulatoires :	64 - 83 g/L
	6,4 - 8,3 g/dL
Patients alités :	60 - 78 g/L
	6,0 - 7,8 g/dL

Le sérum et le plasma peuvent être utilisés pour la détermination des protéines totales. Du fait du fibrinogène, la concentration moyenne en protéines totales dans le plasma est plus élevée que dans le sérum et tout spécialement comme indiqué ci-dessous (1) :

Origine du sang	Augmentation de la concentration en protéines du sérum au plasma
Donneurs de sang :	+ 2,5 g/L
Patients ambulatoires :	+ 3,6 g/L
Patients hospitalisés :	+ 4,6 g/L
Patients hospitalisés avec CRP >50 mg/dL :	+ 6,6 g/L

Conservation et stabilité

Stabilité avant ouverture :

Stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette s'il est stocké entre 2-8°C.

Stabilité après ouverture :

Stable pendant 1 mois entre 2-8°C, s'il est immédiatement fermé et que toute contamination est évitée.

Traitement des déchets

Se référer à la législation locale en vigueur.

Précautions générales

- Réactif de diagnostic *in vitro*, à usage professionnel uniquement.
- Réservé à l'usage prescriptif.
- Ce réactif est classé comme dangereux conformément aux réglementations (CE) n° 1272/2008.
- **Avertissement**
 - H290** : Peut être corrosif pour les métaux.
 - H412** : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
 - P234** : Conserver uniquement dans le récipient d'origine.
 - P273** : Éviter le rejet dans l'environnement.
 - P390** : Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle n'attaque les matériaux environnants.
 - P406** : Stocker dans un récipient résistant à la corrosion avec doublure intérieure résistante à la corrosion.
- Les cassettes de réactifs sont à usage unique et leur mise aux déchets doit être effectuée conformément aux législations locales en vigueur.
- Se référer à la MSDS associée au réactif.
- Ne pas utiliser le produit en cas de trace visible de détérioration biologique, chimique ou physique.
- Il est de la responsabilité de l'utilisateur de vérifier si ce document est applicable au réactif utilisé.

Performances sur Pentra C400

Sérum, plasma

Les performances présentées ci-dessous sont représentatives des performances obtenues sur les systèmes HORIBA Medical.

Nombre de tests : environ 300 tests ^b

Stabilité du réactif embarqué ^c

Utiliser un réactif frais chaque jour. Éliminer le réactif restant dans le contenant après utilisation.

Volume d'échantillon : 2,0 µL/test

^bModification : nouvelle recommandation.

^cModification : ajout de la stabilité du réactif embarqué.

ABX Pentra Total Protein CP

Limite de détection

La limite de détection, déterminée en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP17-A (8) est égale à 1,4 g/L (0,14 g/dL).

Limite de détermination quantitative

La limite de détermination quantitative, déterminée en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP17-A (8) est égale à 6,0 g/L (0,60 g/dL).

Exactitude et précision

Répétabilité (précision intra-série)

Répétabilité selon les recommandations du protocole Valtec (9) les échantillons étant testés 20 fois :

- 2 contrôles
- 3 échantillons (basse / moyenne / haute)

	Moyenne g/L	Moyenne g/dL	CV%
Échantillon de contrôle 1	51,6	5,16	1,01
Échantillon de contrôle 2	51,7	5,17	1,24
Échantillon 1	42,3	4,23	1,12
Échantillon 2	60,6	6,06	0,87
Échantillon 3	79,3	7,93	0,69

Reproductibilité (précision totale)

Reproductibilité suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS) EP5-A (10), les échantillons étant testés en double pendant 20 jours (2 séries par jour) :

- 2 contrôles
- 2 échantillons (concentration faible / haute)

	Moyenne g/L	Moyenne g/dL	CV%
Échantillon de contrôle 1	52,50	5,25	2,51
Échantillon de contrôle 2	51,88	5,19	2,37
Échantillon 1	44,95	4,50	2,82
Échantillon 2	66,69	6,67	2,19

Intervalle de mesure

Le dosage a confirmé un intervalle de mesure de 6,0 g/L (0,60 g/dL) à 100,0 g/L (10,00 g/dL).
L'intervalle de mesure est étendu à 200,0 g/L (20,00 g/dL) avec la post-dilution automatique.

La linéarité du réactif a été évaluée jusqu'à 100,0 g/L (10,00 g/dL) en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP6-A (11).

Corrélation

Sérum échantillons :

Échantillons de patients : Sérum

Nombre d'échantillons de patients : 115

Des échantillons ont été dosés comparativement à un réactif commercialisé pris comme référence en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP9-A2(12).

Les valeurs étaient comprises entre 7,3 g/L (0,73 g/dL) et 96,6 g/L (9,66 g/dL).

$$Y = 1,02 X + 0,6 \text{ (g/L)}$$

$$Y = 1,02 X + 0,06 \text{ (g/dL)}$$

avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,9845$.

Plasma échantillons :

Échantillons de patients : Plasma recueilli sur héparine de lithium

Nombre d'échantillons de patients : 131

Des échantillons ont été dosés comparativement à un réactif commercialisé pris comme référence en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP9-A2(12).

Les valeurs étaient comprises entre 7,0 g/L (0,70 g/dL) et 96,9 g/L (9,69 g/dL).

$$Y = 0,97 X - 0,2 \text{ (g/L)}$$

$$Y = 0,97 X - 0,02 \text{ (g/dL)}$$

avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,9798$.

Interférences

Hémoglobine : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 72,5 µmol/L (125 mg/dL).

Hémoglobine : Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés.

Triglycérides : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de triglycérides de 4,1 mmol/L (355 mg/dL).

Bilirubine totale : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 616 µmol/L (36 mg/dL).

Bilirubine directe : Pas d'interférence significative jusqu'à une concentration de 616 µmol/L (36 mg/dL).

D'autres limitations sont données par Young comme une liste de médicaments et variables préanalytiques connus pour affecter cette méthodologie (13, 14).

ABX Pentra Total Protein CP

Stabilité de la calibration

Le réactif est calibré à J0. La stabilité de la calibration est vérifiée en testant 2 échantillons de contrôle.

La stabilité de la calibration est de 1 jour.

Remarque : il est recommandé d'effectuer une nouvelle calibration après chaque changement de lots de réactifs ou lorsque les résultats du contrôle de qualité sont en dehors de l'intervalle établi.

Facteur de conversion

$\text{g/L} \times 0,1 = \text{g/dL}$

Bibliographie

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: THBooks Verlagsgesellschaft (1998): 644-647.
2. Roberts WL, McMillin GA, Burtis CA, Bruns DE. Reference Information for the Clinical Laboratory. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th Ed., Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. (Elsevier Saunders eds. St Louis USA), (2006): 2293.
3. Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction, J. Biol. Chem. (1949) **177** (2): 751-766.
4. Kingsley GR. J. Lab. and Clin. Med. (1942) **27**: 840.
5. Mehl JW. J. Biol Chem. (1945) **157**: 173.
6. Weichselbaum TE. Am. J. Clin. Path. (1946) **10**(Tech. Suppl.): 40.
7. Zecca AM. Semana Med. Buenos Aires, 2, 709 (1947); Chem. Abstr. (1948) **42**: 1621.
8. Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP17-A (2004) **24** (34).
9. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
10. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A (1999) **19** (2).
11. Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP6-A (2003) **23** (16).
12. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP9-A2 (2002) **22** (19).
13. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
14. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.

