

Utilisation

Pour la détermination quantitative des protéines totales dans l'urine. A usage médical uniquement.

Signification clinique

La présence de protéines dans l'urine est un indicateur très sensible des troubles rénaux. Il y a quatre façons par lesquelles des quantités accrues de protéines peuvent se produire : augmentation de la perméabilité glomérulaire ; réabsorption tubulaire défectueuse ; augmentation de la concentration plasmatique d'une protéine anormale de faible poids moléculaire ; et sécrétion anormale de protéines dans les voies urinaires. ¹ L'albuminurie, c'est-à-dire l'augmentation des quantités d'albumine dans l'urine, a été reconnue comme un indicateur précoce de lésions rénales dans le diabète qui peuvent être inversées si elles sont détectées et traitées tôt²

Historique

Diverses méthodes ont été décrites pour la détermination des concentrations de protéines dans les fluides biologiques. Ces méthodes sont basées sur des procédures colorimétriques, turbidimétriques, électrophorétiques ou immunologiques. ^{3,4} Les méthodes de liaison au colorant sont caractérisées comme ayant une bonne précision et sensibilité. La méthode Coomassie Blue⁵ est très sensible, mais les réactifs tachent la verrerie et le plastique. Cette méthode est basée sur la procédure développée par Fujita⁶ et Watanabe. ⁷ Il s'agit d'une méthode colorimétrique de liaison de colorant sensible utilisant le rouge pyrogallol. La méthode tache rarement les cuvettes ou les tubes en plastique et peut être automatisée.

Principe

Le rouge de pyrogallol est combiné avec de l'acide molybdène à faible pH. Lorsque le complexe est combiné avec des protéines, une couleur bleu-violet se forme. L'augmentation de l'absorbance à 600 nm est directement proportionnelle à la concentration en protéines dans l'échantillon.

Réactifs

1. RÉACTIF MICROPROTEINE : Contient du tampon, du rouge pyrogallol 0,067 mmol/L, du stabilisateur de molybdate de sodium 0,153 mmol/L, des tensioactifs et un agent de conservation.
2. SOLUTION PROTEINE STANDARD: Contient de l'albumine 50 mg / dl dans une solution saline avec de l'azotate de sodium à 0,05% comme agent de conservation.

Préparation du réactif

Le réactif microprotéique et la solution protéine standard sont fournis prêts à l'emploi.

Stockage des réactifs

Conservez le réactif à microprotéines et le réactif protéine standard réfrigérés (2-8 °C). Le réactif et le standard sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur les étiquettes.

Précautions

1. Le réactif Microprotéine est destiné à un usage diagnostic *in vitro* uniquement.
2. Les précautions normales prises lors de la manipulation des réactifs de laboratoire doivent être suivies.
3. La Protéine Standard contient de l'azotate de sodium. Peut réagir avec la tuyauterie en plomb ou en cuivre pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer avec un grand volume d'eau pour éviter l'accumulation d'azotate.

Réactif / Détérioration standard

Le réactif et le standard doivent être clairs. Ne pas utiliser en cas de trouble. L'incapacité d'atteindre les valeurs de contrôle dosées peut indiquer une détérioration du réactif et/ou du standard. Ne pas utiliser si l'absorbance du réactif à 600 nm est inférieure à 0,100.

Prélèvement et stockage des échantillons

Il est recommandé que le prélèvement des échantillons soit effectué conformément au document M29-T2 du CCNLS Les échantillons contenant des particules visibles doivent être centrifugés avant d'être testés.

URINE : Les tests sont effectués sur des échantillons de 24 heures. L'urine ne doit pas être recueillie pendant les périodes d'exercice physique en raison de son effet sur la concentration d'albumine. Les dosages de protéines doivent être effectués sur des échantillons frais. Si l'essai ne peut pas être effectué avec de l'urine fraîche, les échantillons peuvent être conservés à -20 °C pendant une période maximale d'un an. ⁸ REMARQUE : L'hémoglobine peut augmenter les valeurs de protéines totales récupérées, NE PAS UTILISER d'échantillons contenant du sang.

Interférences

Il est recommandé de ne pas utiliser d'échantillons d'urine avec des conservateurs ajoutés, car il a été démontré que certains conservateurs ajoutés tels que HCL et l'acide benzoïque interfèrent dans le dosage des protéines, donnant des résultats faussement faibles. ⁷ La bilirubine à un niveau de 20 mg / dl et l'acide ascorbique à un niveau de 3,0 mg / dl se sont avérés ne pas interférer avec le test. (Écart inférieur à 3,0 % pour les échantillons compris entre 130,0 et 132,0 mg/dl et inférieur à 17 % pour les échantillons mesurés entre 9,2 et 12,5 mg/dl) L'hémoglobine étant une protéine, augmentera les valeurs protéiques totales récupérées. La variation du pH n'a eu aucun effet sur la détermination de la protéine totale. Les effets de la variation de la densité n'ont pas été évalués. Certains médicaments et médicaments peuvent interférer, voir Fujita.⁶

Matériaux fournis

1. Réactif Microprotéine
2. Solution Protéine Standard

Matériel requis mais non fourni

1. Dispositifs de pipetage précis.
2. Tubes à essai/rack
3. Bain-marie ou bloc de chaleur (37°C)
4. Minuteur.
5. Spectrophotomètre capable de lire à 600nm.

Procédure (automatisée)

Des procédures d'application sont disponibles pour divers instruments automatisés. Veuillez contacter le service technique.

Procédure (Manuel)

1. Étiqueter les tubes à essai « Blanc », « Standard », « Contrôle », « Échantillons », etc.
2. Pipeter 1,0 ml de réactif microprotéine sur chaque tube.
3. Laisser les tubes chauffer à 37°C.
4. Pipette 0,02 ml (20ul) eau déminéralisée, étalon, témoins et échantillons sur les tubes correctement étiquetés.
5. Laisser les tubes incuber à 37 °C pendant 5 minutes.
6. Après 5 minutes, réglez le spectrophotomètre à 600 nm et mettez l'instrument à zéro avec le tube BLANK.
7. Lire et noter l'absorbance (Abs) de l'étalon, des contrôles et des échantillons.
8. Pour déterminer la concentration en microprotéines des échantillons, reportez-vous à la section « Calculs ».

Calibration

Utilisez un étalon de protéines aqueuses (traçable au NIST SRM 927c).

Contrôle qualité

La pratique standard en matière de contrôle de la qualité devrait être appliquée à cette procédure. Des témoins urinaires disponibles dans le commerce (2 niveaux) doivent être utilisés pour surveiller les variations quotidiennes acceptables. Un niveau de rendement satisfaisant est atteint lorsque

Les valeurs de l'analyse obtenues se situent dans la plage acceptable établie par le laboratoire.

Calculs

Les valeurs protéiques sont exprimées en mg/dl.

Pointe Microprotéine Kit réactifs

$$\text{Protéine (mg/dl)} = \frac{\text{Abs Unk}}{\text{Abs Std.}} \times \text{Conc. de Std.}$$

Où:
Abs Unk = L'absorbance de l'échantillon inconnu
Abs Std. = L'absorbance de l'étalon
Conc. de Std. = Concentration de l'étalon (50 mg/dl)

Exemple:
Abs Unk = 0,085
Abs Std = 0,195
Conc. de Std. = 50 mg/dl
Protéines (mg/dl) = $\frac{0,085}{0,195} \times 50 = 21,8$ mg/dl

Pour déterminer la protéine urinaire sur 24 heures, mesurez le volume total d'urine sur 24 heures en ml (TV) et dosez la teneur en protéines urinaires (mg / dl). Calculez la protéine urinaire sur 24 heures à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Protéine (mg/jours)} = \text{Protéine (mg/dl)} \times \frac{\text{TV}}{100}$$

Où : TV = volume total d'urine sur 24 heures en ml
100 = convertit ml/jour en dl/jour

Unités S.I.

Pour convertir les résultats en unités S.I., multipliez la concentration en microprotéines (mg/dl) par 0,0100. Par exemple, concentration de microprotéines = 21,8 mg/dl x 0,0100 = 0,218 g/L.

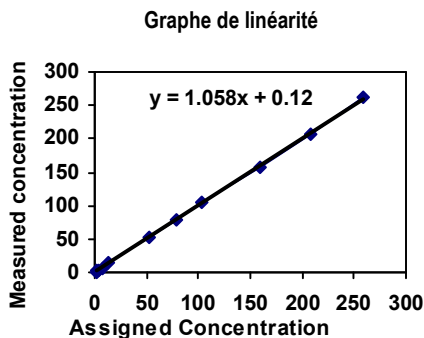
Valeurs attendues ^{6,7}

Protéines urinaires sur 24 heures : 28 - 141 mg/jour
Urine aléatoire : <10 mg / dl

REMARQUE : Chaque laboratoire doit confirmer la validité des intervalles indiqués pour la population qu'il dessert.

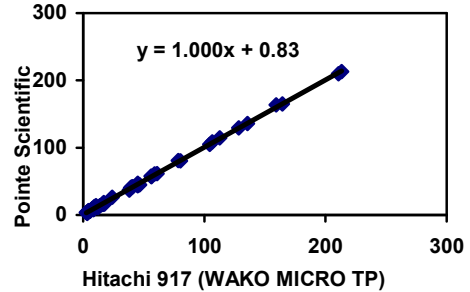
Performance

- Gamme de dosage : La procédure de microprotéine a une plage de dosage de 2,0 à 250 mg / dl. Les échantillons qui dépassent 250 mg/dl doivent être dilués avec un volume égal de solution saline isotonique et dosés à nouveau. Multiplier le résultat par 2 pour compenser la dilution.
- La linéarité a été réalisée en utilisant onze concentrations connues allant de 1,23 à 259,43 mg / dl. L'étude a été réalisée sur un analyseur Roche Hitachi 917. La récupération graphique s'affiche.



- Sensibilité : Sur la base d'une résolution d'absorbance de l'instrument de 0,001, cette procédure a une sensibilité de 0,250 mg / dl. La limite de détection s'est avérée être de 2,0 mg/dl lorsque l'absorbance a été lue bichromatiquement à 600/700 nm (analyseur chimique Hitachi 917).
- Comparaison : Les études entre la méthode actuelle et une méthode similaire (Wako Autokit Micro TP réalisée sur le Hitachi 917) ont donné un coefficient de corrélation de 0,9997 et une équation de régression de $y = 1,000x + 0,83$. 55 échantillons avec une plage de 2,5 à 213,3 mg / dl ont été utilisés dans l'étude. La récupération graphique s'affiche.

Graphique de corrélation



- Précision : Études réalisées sur un analyseur Roche Hitachi 917. La précision du test a été évaluée à la suite d'une modification du protocole EPT-T2 du NCCLS. Les données de précision intra-Run ont été obtenues en exécutant trois échantillons dans des répétitions de 20 le même jour. Les données Run to Run ont été obtenues en exécutant trois échantillons dans des répétitions de cinq sur une période de trois jours.

Within Run Urine (N=20)			Run to Run Urine (N=20)		
moy	S.D.	C.V.%	Moy	S.D.	C.V.%
8.7	0.7	8.6	10.2	0.9	8.6
121.8	2.1	1.7	127.0	1.6	1.2
240.3	1.7	0.7	242.5	2.4	1.0

References

- Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders, Philadelphia p. 608, 1986.
- Viberti, G.C., Pickup, J.C., Jarrett, R.J., Keon, H., N Engl J Med. 300:638-41 1979.
- Grant, G.H., Kachmer, J.F.: Fundamentals of Clinical Chemistry. N.W. Tietz, Editor, W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 358-374, 1976.
- Cannon, D.C., Olitzky, I., Inkpen, J.A.: Clinical Chemistry – Principles and Technics, 2nd Ed., R.J. Henry, D.C. Cannon, J.W., Winkelman, Editors, Harper & Row, New York, pp. 442-431, 1974.
- Pesce, M.A., Strande, C.S., Clin Chem 19:1265-1267, 1973.
- Fujita, Y., Mori, I., Kitano, S. Color reaction between pyrogallol red-molybdenum (VI) complex and protein. Bunseki Kagaku 32: E379-E386, 1983.
- Watanabe, N., Kamel, S., Ohkubo, A., Yamakna, M., Clin Chem 32:1551-1554, 1986.
- Tietz, N.W.; Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders, Phil. P.470, 1990.

Symboles

Use by (YYYY-MM-DD)	LOT Lot and batch code
Catalog number	Manufacturer
<i>In vitro</i> diagnostic medical device	Temperature limitation
Consult instructions for use	Rx Only: Prescription Use Only
CE mark	Authorized representative in the European Community

REF P7582 Manufactured by
HORIBA Instruments Incorporated
5449 Research Drive
Canton, MI 48188



Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated: Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BELGIUM
Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Pointe Microprotéine Kit réactifs

Réactifs certifiés

Les réactifs Pointe sont certifiés pour être fabriqués selon des paramètres spécifiés. Tout produit réactif Pointe ne répondant pas aux spécifications jusqu'à sa date d'expiration indiquée sera corrigé immédiatement sans frais.

Rev. 06/23 P803-P7582-01-FR
