



Urine Protein



METHODE COLORIMETRIQUE POUR LA DETERMINATION QUANTITATIVE DE LA CONCENTRATION DES PROTEINES DANS L'URINE ET LE LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN



Produit de diagnostic in vitro

DESCRIPTION DU COFFRET

REF	Système	Composition du coffret REAGENT	STANDARD
30957	Automates et mode Manuel	5x20 mL	1x3 mL

INDICATION

Une concentration élevée des protéines totales dans l'urine (protéinurie) peut être décelée dans la plupart des maladies rénales. Les néphropathies primaires et secondaires peuvent provoquer une augmentation de la perméabilité glomérulaire ou une diminution de la réabsorption tubulaire. Les raisons post-rénales de la protéinurie sont les maladies malignes, les saignements ou les infections du système urinaire. Des taux élevés de protéines urinaires peuvent également être liés à d'autres maladies aiguës comme la fièvre ainsi que le stress psychologique et physique.

Dans le cas du liquide céphalo-rachidien (LCR), des taux élevés de protéines peuvent être mesurés en cas d'augmentation de la pression intracrânienne (provoquée par des tumeurs cérébrales, des hémorragies cérébrales ou des lésions traumatiques), en cas d'inflammation (en particulier pour les méningites bactériennes) ainsi que dans les scléroses multiples. Les perméabilités augmentées de la barrière sang-LCR sont mesurées par un rapport "Protéines LCR/Protéines sériques élevé".

PRINCIPE DE LA METHODE

Test photométrique au rouge de pyrogallol.

Les protéines et le molybdate/rouge de pyrogallol forment un complexe rouge. La couleur est directement proportionnelle à la concentration des protéines totales dans l'échantillon.

REACTIFS

Composition Concentration initiale

REAGENT

Rouge de pyrogallol 60 µmol/L
Molybdate de sodium 40 µmol/L

STANDARD

Albumine 0,2 g/L (200 mg/L)

Préparation

Le **REAGENT** et le **STANDARD** sont fournis sous forme liquide et sont prêts à l'emploi.

Conservation et stabilité

Conservé entre +2 et +8 °C. Ne pas congeler le **REAGENT** !

Si l'absorbance du **REAGENT** est > 0,300 à 600 nm, il est conseillé d'évaluer les résultats obtenus avant leur acceptation.

Après ouverture

- Le **REAGENT** est stable jusqu'à la date d'expiration, si la contamination et l'évaporation sont évitées et s'il est protégé de la lumière.
- Le **STANDARD** est stable pendant 120 jours, si la contamination et l'évaporation sont évitées et s'il est protégé de la lumière.
- Les conditions ci-dessus ne sont valables que si les flacons sont ouverts au moment de prélever le réactif, puis refermés immédiatement avec leur bouchon et conservés à la température indiquée.

MATERIELS AUXILIAIRES

- Pipettes automatiques
- Photomètre
- Cuvettes d'analyse (trajet optique = 1 cm)
- Bain-marie thermostaté
- Solution de NaCl 9 g/L

ECHANTILLONS

Type d'échantillon

Urine de 24h ou liquide céphalo-rachidien.

Traitement de l'échantillon / Eléments pré-analytiques

Il est recommandé d'effectuer le traitement de l'échantillon conformément au Document NCCLS H11-A3.^[7]

Conservation et stabilité

Echantillons	Température (°C)		
	+20 - +25	+2 - +8	- 20
Urine :	1 jour	2 jours	
Liquide céphalo-rachidien :	1 jour	6 jours	1 an

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle disponible sur le marché doit être utilisé pour un contrôle de qualité interne.

PROCEDURES ANALYTIQUES

Les feuilles d'application pour les systèmes automatisés sont disponibles auprès de Menarini Diagnostics.

Température de travail +20 – +25 °C ou +37 °C

Longueur d'onde 600 nm, Hg 578 nm;
Plage 580-600 nm

Trajet optique 1 cm

Réaction Point final (réaction croissante)

Laisser les réactifs atteindre la température de travail avant l'utilisation.

Procédure			
	Blanc Réactif	Standard	Echantillon
REAGENT	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Eau distillée	20 µL	-	-
Standard	-	20 µL	-
Echantillon	-	-	20 µL
Mélanger, incubé pendant 5 mn. et lire l'absorbance de l'échantillon et du standard par rapport au blanc réactif en moins de 30 mn.			
Les volumes peuvent être modifiés proportionnellement.			

CALCUL DES RESULTATS

La concentration de protéines totales, avec le standard ou le calibrant, est calculée de la manière suivante:

$$\text{Protéine [g/L]} = \frac{\Delta A \text{ Echantillon}}{\Delta A \text{ Standard/Cal.}} \times \text{Conc. Standard/Cal.}$$

VALEURS DE REFERENCE [2,3]

Urine 0,024 - 0,141 g/24h
Liquide céphalo-rachidien < 0,50 g/L*

* la valeur est uniquement une indication approximative.
Les valeurs de référence, dans le vrai sens du terme, existent seulement pour le rapport LCR/sérum.

Remarque

Il est recommandé au laboratoire d'établir ses propres valeurs normales en fonction de sa population de patients.

PERFORMANCES ANALYTIQUES

Imprécision

INTRA-SERIE			
URINE	TAUX 1	TAUX 2	TAUX 3
N	20	20	20
Moyenne [g/L]	0,178	0,450	1,564
DS	0,00523	0,00510	0,00276
CV %	2,94	1,14	1,77

INTER-SERIES			
URINE	TAUX 1	TAUX 2	TAUX 3
N	20	20	20
Moyenne [g/L]	0,170	0,449	1,484
DS	0,00394	0,00968	0,00425
CV %	2,32	2,16	2,86

Sensibilité

La limite de détection (valeur moyenne + 3 DS) est de 0,020 g/L.

Domaine de mesure

Le test a été développé pour déterminer des concentrations de protéines urinaires de 0,02 – 3,00 g/L.

Pour des valeurs supérieures à cette plage, les échantillons doivent être dilués 1+1 avec la solution de NaCl (9 g/L). Le résultat doit être multiplié par 2. Les échantillons avec des concentrations inférieures doivent être dosés avec des volumes plus élevés (par ex. échantillon 50 µL + REAGENT 1000 µL).

Corrélation

Une étude comparative de cette méthode en utilisant une autre méthode au rouge de pyrogallol a donné les résultats suivants :

$N = 69$ $y \text{ (Menarini)} = 1,02x + 2,20$ $r = 0,990$

Interférences

Les erreurs dues aux constituants qui interfèrent dans l'urine sont < 2%.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

Les réactifs contiennent des composants inactifs tels que des agents de conservation (azide de sodium ou autres), des surfactants, etc., dont la concentration est inférieure aux limites fixées par les directives 67/548/EEC et 88/379/EEC concernant le classement, le conditionnement et l'étiquetage des substances dangereuses. Les réactifs doivent être manipulés avec précaution : éviter de les avaler, leur contact avec la peau, les yeux et les muqueuses.

Il est conseillé d'utiliser les réactifs selon les bonnes pratiques de laboratoire.^[8]

Gestion des déchets

Il est conseillé de se conformer aux lois locales en vigueur.

BIBLIOGRAPHIE

1. Johnson AM, Rohlf EM, Silverman LM. Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 477-540.
2. Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 1308-26.
3. Boege F. Urinary proteins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 382-400.
4. Orsonneau JL, Douet P, Massoubre C, Lustenberger P, Bernard S: An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. Clin Chem 1989; 35:2233-6.
5. Watanabe N, Kamei S, Ohkubo A, Yamanaka M, Ohsawa S, Makino K et al.: Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex. Manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. Clin Chem 1986; 32:1551-4.
6. Chitto G, Fabi A, Franzini C, Galletta G, Leonardi A, Marelli M, Morelli AM: Variabilità biologica intra-individuo: rassegna della letteratura, contributo sperimentale e considerazioni critiche. Biochimica Clinica, 1994; 18, 10:673.
7. NCCLS Document, "Procedures for the collection of arterial blood specimens", Approved Standard, 3rd Ed. (1999).
8. EU-Dir 1999/11 Commission Directive of 8 March 1999 adapting to technical progress the principles of good laboratory practice as specified in Council Directive 87/18/EEC...

50012 Bagno a Ripoli - Firenze - ITALY

Tel. 0039-055-5680420 - Fax 0039-055-5680902