

PROTEINE (URINE ET LCR)

REF 1162005

2 x 50 mL

CONTENU

Réactif R1. 2 x 50 mL

Standard CAL. 1 x 3 mL

Uniquement pour diagnostic *in vitro***PROTEINE**

URINE ET LCR

Méthode Colorimétrique

POINT FINAL

PRINCIPE

La méthode mesure¹ le changement dans le spectre d'absorption de 460 à 600 nm du complexe qui se produit à pH acide entre le rouge pyrogallol molybdate (RPM) et les groupes aminés basiques des protéines d'urine et du liquide cébrospinal (LCR). L'intensité du complexe coloré formé est proportionnelle à la concentration de protéine dans l'échantillon.

pH 2,5

RPM + Protéine Urine/LCR $\longrightarrow$ RPM-Complexe protéine

COMPOSITION DES REACTIFS

R1 Réactif Pyrogallol. Tampon Succinate 60 mmol/L pH 2,5, rouge pyrogallol 0,06 mmol/L, molybdate de sodium 0,04 mmol/L, SDS 0,08 mmol/L. **X_n. R20/22 S:24/25.**

CAL Standard protéine Urinaire. Albumine/Globuline 200 mg/dL (2 g/L). Mélange tamponné (80/20) sur une matière artificielle. Biocides. La valeur de la concentration est traçable à la Matière de Référence Standard 927.

CONSERVATION ET STABILITE

 Conserver **R1** à 15-30°C, et **CAL** à 2-8°C une fois ouverte tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.

Conserver les flacons hermétiquement fermés, protégés de la lumière et hors des contaminations pendant l'usage.

Se débarrasser des réactifs s'il apparaît des signes de détérioration:

- Présence de particules et d'une turbidité.
- Absorbance du blanc réactif (A) à 600 nm > 0,200 dans une cuve de 1 cm d'épaisseur.

PREPARATION DES REACTIFS

Le Réactif et le Standard sont prêts à l'emploi.

ECHANTILLON

Urine collectée sans préservatifs et LCR (Voir Notes).

Les échantillons turbides doivent être centrifugés avant le test.

Les protéines de l'urine sont stables jusqu'à 8 jours à 2-8°C, et pendant 3 mois à -20°C. Les protéines de LCR sont stables pour 3 jours à 2-8°C et pendant 3 mois à -20°C.

INTERFERENCES

- La Bilirubine (< 5 mg/dL) n'interfère pas.
- L'Hémoglobine peut affecter les résultats.
- Les autres médicaments et substances peuvent interférer³.
- Les interférences positives dans l'urine de malades sous traitement aux aminoglycosides-gentamicine ou tobramycine rapporté par d'autres tests au pyrogallol ont démontré n'avoir aucune influence avec cette formulation spécifique.²

- Le LCR contaminé par les globules rouges lors d'une ponction lombaire traumatique ou d'une hémorragie intracérébrale augmentera les concentrations de la protéine par 10 mg/L pour chaque 1000 érythrocytes.⁵

MATERIEL AUXILIAIRE

- Photomètre ou colorimètre capable de lire l'absorbance à 600 ± 20 nm.
- Incubateur réglé à température constante de 37°C.
- Pipettes pour mesure et distribution des réactifs et échantillons.

PROCEDURE

1. Porter les réactifs et échantillons à la température de laboratoire.
2. Pipeter dans les tubes étiquetés:

TUBES	Blanc	Echantillon	Standard CAL.
Réactif R1.	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Echantillon	—	20 µL	—
Standard CAL.	—	—	20 µL

3. Mélanger et laisser les tubes 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à la température de laboratoire.
4. Lire l'absorbance (A) des échantillons et du standard à 600 nm contre le blanc réactif.

La coloration est stable au moins pendant 30 minutes protégée de la lumière.

CALCULS

Urine

$$\frac{A \text{ Echantillon}}{A \text{ Standard}} \times V \times 2000 = \text{mg/24-h}$$

V = Litres d'urine/ 24-h
2000 = mg/L standard

Urine (Echantillons d'urine simple), LCR

$$\frac{A \text{ Echantillon}}{A \text{ Standard}} \times C \text{ Standard} = \text{mg/dL de protéine (Voir Notes)}$$

Les échantillons avec des concentrations supérieures à 400 mg/dL doivent être dilués à la proportion de 1:2 avec le sérum physiologique et refaire l'analyse. Multiplier les résultats obtenus par 2.



REFERENCE VALUES⁴

Urine

Adultes	Echantillons urine des 24-h : < 150 mg/ 24-h Echantillons urine simple: < 25 mg/dL
---------	---

LCR

Adultes	< 45 mg/dL
Enfants	< 100 mg/dL

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de valeurs de référence.

CONTROLE DE QUALITE

L'usage d'un standard pour calculer les résultats permet d'obtenir une précision indépendante du système ou de l'instrument utilisés. Pour assurer un contrôle de qualité (QC) approprié, chaque test doit inclure un ensemble de contrôles, traités comme ayant des valeurs inconnues.

Si les valeurs sont en dehors de la plage définie, vérifiez l'instrument, les réactifs et la procédure.

Chaque laboratoire doit établir ses propres plans de contrôle de qualité interne et les mesures correctives, dans le cas où les résultats des contrôles sont hors des tolérances acceptables.

INTERPRETATION CLINIQUE

La mesure de la protéine totale dans l'urine est remplacée de plus en plus par la mesure de l'albumine, telle que est la protéine urinaire prédominante qui a démontré une sensibilité améliorée et une spécificité lors des variations de la perméabilité glomérulaire.

Une excrétion urinaire augmentée signale une augmentation de la fuite transcapsulaire, étant habituellement un marqueur de la maladie micro vasculaire, elle peut aussi être modifiée par les facteurs physiologiques (exercice, diurèse et la posture) et par variation hémodynamique intra rénale.

Le processus de réabsorption tubulaire est saturable et toute augmentation dans la perméabilité glomérulaire ou de concentration plasmatique (par exemple, de la protéine de Bence-Jones), ou la baisse de la capacité de réabsorption due à un dommage tubulaire proximal (par exemple, par les drogues néphrotoxiques) peut entraîner une protéinurie.

L'excrétion de l'albumine urinaire persistant précède et est hautement prédictive de la néphropathie diabétique, stade final de la maladie rénale, et de la rétinopathie proliférative dans le diabète de type I.

La mesure de protéine dans le LCR est utilisée pour distinguer la méningite septique de méningite aseptique. Des concentrations protéiques de 1 g/L sont souvent objectivées comme diagnostique des méningites bactériennes, fongiques, ou tuberculeux.⁶

NOTES

- Les échantillons actuellement acceptables sont: Urines collectées pendant 24 h; pendant la nuit (20-24 h); de 1-2 h, ou l'échantillon d'urine du matin au réveil. A cause des hautes variations intra individuelles et diurnes, au moins trois échantillons séparés devraient être analysés.
- Pour augmenter la sensibilité dans la gamme normale tester 50 µL of de l'échantillon, et diluer le standard au 1:4 (1+3) avec l'eau physiologique. Utiliser la nouvelle concentration de 50 mg/dL pour les calculs.
- Cette méthode peut être utilisée avec des différents instruments. Toute application à un instrument devrait être validée pour démontrer que les résultats rencontrent les caractéristiques de performance de la méthode. Il est recommandé de valider périodiquement l'instrument. Veuillez contacter le distributeur pour toutes questions relatives à l'application de la méthode.

- Le diagnostic clinique ne devrait pas se limiter sur les seuls résultats du test, mais intégrer corrélativement les données cliniques et de laboratoire.

CARACTERISTIQUES ANALYTIQUES

- **Limite de détection** : 8 mg/dL

- **Linéarité** : Jusqu'à 400 mg/dL

- **Précision**:

mg/dL	Intra-série		Inter-série	
Moyenne	73	279	73	279
SD	1,0	2,0	2,0	5,0
CV%	1,35	0,67	3,09	1,84
N	10	10	10	10

- **Sensibilité** : 2,3 mA / mg/dL de protéines.

- **Corrélation**. Ce test (y) a été comparé avec une méthode commerciale similaire (x). Les résultats suivants ont été obtenus:

$$N = 50 \quad r = 0,99 \quad y = 0,95x - 0,01$$

Ces caractéristiques analytiques ont été obtenues en utilisant des équipements automatiques. Les résultats peuvent varier en fonction de l'équipement.

BIBLIOGRAPHIE

- Orsonneau, J.L., Dovet, P., Massoubre, C., Lustenberger, P., and Bernard, S. Clin. Chem. 35: 2233 (1989).
- Koerbin, G., Taylor, L., Dutton, J., Marshall, K, Low, P., and Potter, J.M. Clin. Chem. 47: 2183 (2001).
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).
- Greenlee, S.E. Infect. Dis. Clin. North Am. 4: 583 (1990).
- Viberti, G.C., Hill, R.D., and Jarret, R.J. Lancet, I : 1430 (1982). Bonadio, W.A. Pediatr. Infect. Dis. J. 11: 423 (1992).