



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

PROTEINES TOTALES Méthode Biuret

Réactif pour le dosage quantitatif des protéines totales dans le sérum et le plasma humains

REF 80016 : R1 1 x 500 mL R2 1 x 500 mL R3 1 x 5 mL

CODE CNQ : WT

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256



IVD USAGE IN VITRO

INTERET CLINIQUE (1)

La composition globale en protéines d'un sérum ou d'un plasma de patient doit être étudiée par détermination du contenu en protéines totales et ensuite en examinant sa composition par électrophorèse.

La diminution du volume d'eau plasmatique (hémococoncentration), fréquente en cas de déshydratation (vomissement aiguë, diarrhées, maladie d'Addison, ou acidose diabétique), se traduit par une hyperprotéinémie relative. L'hémodilution (augmentation du volume d'eau plasmatique) apparaissant dans les cas d'intoxication par l'eau ou les syndromes de rétention de sel, pendant une perfusion intraveineuse, et physiologiquement en cas d'alitement prolongé, se traduit par une hypoprotéinémie relative. Souvent et pour différentes raisons, l'hypoprotéinémie peut aussi être due à une diminution de la concentration en albumine. L'augmentation de protéines spécifiques peut également conduire à une hyperprotéinémie moyenne (infection). Une hyperprotéinémie marquée peut être due à une augmentation importante des immunoglobulines monoclonales produites lors de myélomes multiples ou autres hyperparaprotéinémies malignes.

PRINCIPE (4) (5)

Méthode colorimétrique décrite par Gornall et al. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu^{2+} en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines dans le spécimen, est mesurée à 550 nm. Le réactif Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline.

REACTIFS

flacon R1 CHLORURE DE SODIUM
Chlorure de sodium 75 mmol/L

flacon R2 REACTIF BIURET
Hydroxyde de sodium 370 mmol/L
Tartrate-Na-K 10 mmol/L
Iodure de potassium 3 mmol/L
Sulfate de cuivre 3 mmol/L

Avant dilution : Corrosif, R35 : provoque de graves brûlures
Après dilution : Xi, R36/37/38 : Irritant pour la peau, les yeux et le système respiratoire
S36/37/39 : Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/ du visage

flacon R3 ETALON Albumine 60 g/L

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
- Ne pas pipeter avec la bouche.
- Le contenu du flacon R2 reste corrosif après dilution (R34 : provoque des brûlures).
- En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
- La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

Compléter au ras du col avec de l'eau déminéralisée, le contenu du flacon R1 (NaCl) et du flacon R2 (Biuret). Mélanger par retournements. Les réactifs ainsi dilués sont prêts à l'emploi.

STABILITE ET CONSERVATION

A réception, stocker l'Etalon (flacon R3) à 2-8°C.

- **Etalon (flacon R3) :** transvaser la quantité nécessaire, bien reboucher le flacon et stocker à 2-8°C.
- Utilisés et stockés comme indiqué, les réactifs (flacon R1, R2, R3) sont stables dans le flacon d'origine bien bouché et en l'absence de contamination, jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.
- Après ouverture :
Les réactifs de travail (prêts à l'emploi) sont stables au moins 3 mois, stockés à 18-25°C et à l'abri de la lumière.

Ne pas utiliser les réactifs de travail s'ils sont troubles ou si l'absorbance du mélange volume à volume du contenu du flacon R1 dilué et R2 dilué est > 0.050 à 550 nm.

Ne pas utiliser les réactifs de travail après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)

Sérum ou plasma.

L'analyse doit être réalisée sur spécimen frais ou stocké à 2-8°C moins de 72 h.

Les protéines sont stables dans le sérum :

- ✓ 6 mois à -20°C.
- ✓ indéfiniment à -70°C.

INTERFERENCES (3)

Résultats des tests réalisés selon Procédure n°1 :

Glucose :	Pas d'interférence jusqu'à 11 g/L
Acide ascorbique :	Pas d'interférence jusqu'à 250 mg/L
Bilirubine :	Pas d'interférence de la bilirubine totale jusqu'à 550 µmol/L
Hémoglobine :	Interférence positive à partir de 150 µmol/L
Lipémie :	Interférence positive de la turbidité à partir de 0.150 abs (mesurés à 600nm)

Les spécimens lipémiques ou hémolysés peuvent conduire à des résultats surévalués. Pour éviter ces interférences, il convient de réaliser un blanc spécimen (voir § **MODE OPERATOIRE** : procédure n°2). Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Sérums de contrôle normaux et pathologiques.

CALIBRATION (6)

- Etalon du coffret (flacon R3) ou BIOLABO Multicalibrator **REF** 95015 traçables sur SRM927d.
- Ou tout calibrant raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

1. Changement du lot de réactif.
2. Après opérations de maintenance sur l'analyseur.
3. Les valeurs de contrôle obtenues sortent des limites de confiance indiquées, même après utilisation d'un deuxième flacon de sérum de contrôle fraîchement reconstitué.

CONTRÔLE DE QUALITE

CODE CNQ : WT

- BIOLABO EXATROL-N Taux I **REF** 95010.
 - BIOLABO EXATROL-P Taux II **REF** 95011.
 - Tout autre sérum de contrôle titré pour cette méthode.
 - Programme externe de contrôle de la qualité.
- Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :
- Au moins un contrôle par série.
 - Au moins un contrôle par 24 heures.
 - Changement de flacon de réactif.
 - Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance indiquées, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter le test en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

Dans le sérum ou le plasma

Protéines totales	(g/L)
dans le cordon	48-80
Prématuré	36-60
Nouveau-né	46-70
1 semaine	44-76
7 mois-1 an	51-73
1 an-2 ans	56-75
≥ 3 ans	60-80
Adulte, ambulatoire	64-83
Adulte, alité	60-78

≥ 60 ans Valeurs de l'adulte diminuées de 2

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES

Intra-série N = 20	Taux faible	Taux normal	Inter-série N = 40	Taux faible	Taux normal
Moyenne g/L	48,8	54,5	Moyenne g/L	69,2	74,5
S.D. g/L	0,6	0,6	S.D. g/L	1,1	1,3
C.V. %	1,2	1,2	C.V. %	1,6	1,7

Limite de détection : environ 2,1 g/L

Sensibilité pour 10 g/L : environ 0.028 Abs. à 550 nm.

Comparaison avec un réactif de la concurrence (méthode Biuret) :

93 échantillons (sérum) situés entre 30 et 110 g/L sont dosés avec les 2 méthodes

$y \text{ (g/L)} = 0,9758 x + 1,4819$

$r = 0,9879$

MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Procédure n°1 (sans blanc spécimen)

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Mesurer dans des tubes à essais bien identifiés :	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif R1	1,02 mL	1 mL	1 mL
Réactif R2	1 mL	1 mL	1 mL
Etalon		20 µL	
Spécimen			20 µL

Bien mélanger. Laisser reposer 10 minutes à température ambiante.
Lire les absorbances à 550 nm (530-570) contre le blanc réactif.

Procédure n°2 (avec blanc spécimen)

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Mesurer dans des tubes à essais bien identifiés :	Blanc	Blanc Spécimen	Etalon	Dosage
Réactif R1	1,02 mL	2 mL	1 mL	1 mL
Réactif R2	1 mL		1 mL	1 mL
Etalon			20 µL	
Spécimen		20 µL		20 µL

Bien mélanger. Laisser reposer 10 minutes à température ambiante.
Lire les absorbances à 550 nm (530-570) contre le blanc réactif. Lire les blancs spécimen contre le réactif R1.

Remarques :

- ✓ Des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.
- ✓ Réaliser un blanc spécimen pour les sérums troubles, lipémiques ou hémolysés.
- ✓ Les valeurs cibles données pour certains sérums de contrôle sont obtenues avec ou sans blanc spécimen.
- ✓ Analyse bichromatique : la 2^{ème} longueur d'onde est 600 ou 700 nm.

CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

Sans blanc spécimen :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{concentration de l'Etalon}$$

Avec blanc spécimen :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)} - \text{Abs (Blanc spécimen)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{concentration de l'Etalon}$$

LIMITE DE LINEARITE

La réaction est linéaire jusqu'à 100 g/L. Au-delà, diluer le spécimen avec une solution NaCl à 9 g/L et refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat. La limite de linéarité dépend du rapport de dilution spécimen/réactif.

REFERENCES

- (1) TIETZ N.W. *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 477-530.
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test*, 4th Ed., N.W. TIETZ (2000) p. 916-917.
- (3) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th Ed. (1995) p. 3-498 à 3-511
- (4) GORNALL A. C., BARDAWILL C. J., DAVID M. M., *J. Biol. Chem.* 1949, **177**, 751
- (5) TIETZ N.W. *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A. Curtis, E.R. Silverman L. M., Christensen R. H. (1995) p. 523-524
- (6) SRM: Standard reference Material ®