Certificat d'analyse

Matériau de référence certifié

FLUNP-1

Matériau de référence certifié d'une solution d'étalonnage de la nucléoprotéine de l'influenza A (H5N1)

FLUNP-1 est un matériau de référence certifié (MRC) conçu pour être utilisé dans les dosages quantitatifs de la nucléoprotéine de l'influenza de type A et comme contrôle positif pour les tests rapides de détection antigénique au point de service. Les valeurs certifiées pour FLUNP-1 indiquées dans le tableau 1 sont basées sur des données générées par le Conseil national de recherches Canada (CNRC). Une unité de FLUNP-1 comprend 0,2 mL de la nucléoprotéine recombinante de l'influenza A (H5N1) dans une solution tampon Tris de 50 mM (pH 8,2) avec 150 mM de chlorure de sodium, 50 mM de L-arginine et 50 mM de L-acide glutamique.

Tableau 1 : Valeurs certifiées et incertitudes élargies (*k* = 2) pour FLUNP-1

Composé	Concentration molaire µmol/L	Concentration massique µg/mL (22 °C)
nucléoprotéine de l'influenza A (H5N1) (a)	3,8 ± 0,2	231 ± 13

Veuillez consulter les sections ci-dessous pour obtenir des explications supplémentaires

Période de validité: jusqu'à février 2028
Conditions d'entreposage: –80 °C

DOI : 10.4224/crm.2026.flunp-1

Tableau 2 : Valeurs informatives pour FLUNP-1

Composé	Valeur relative %
oligomère de nucléoprotéine (b)	84
monomère de nucléoprotéine (b)	16

Tableau 3 : Valeur informative pour FLUNP-1

Composé	Concentration massique µg/mL (22 °C)
total des protéines de la cellule hôte (c)	9

Utilisation prévue

Distribué en unités de 0,2 mL, le présent matériau de référence certifié est principalement destiné à être utilisé pour le développement et la validation des dosages quantitatifs de la nucléoprotéine de l'influenza A et comme contrôle positif pour les tests rapides de détection antigénique.

Préparation du matériau

La protéine a été produite dans *E. coli* puis purifiée à partir du lysat cellulaire au Centre de recherche en métrologie du CNRC. La solution a été répartie en aliquotes de 0,2 mL dans des tubes stériles en propylène. Tout le processus d'embouteillage des échantillons a été effectué dans un environnement stérile avec des équipements pré-stérilisés.

Caractérisation du matériau

La liste explicative des lettres figurant à côté de chaque composé (tableaux 1, 2 et 3) renvoie à la méthode instrumentale utilisée pour obtenir les mesures :

a) Analyse des acides aminés, corrigés par les impuretés protéiques, via double dilution isotopique en chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (LC–ID–MS/MS)

b) Chromatographie liquide d'exclusion de taille couplée à un spectrophotomètre ultraviolet-visible (LC–SEC–UV)

c) Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (LC–MS/MS)

Les valeurs de concentration molaire et massique ont été calculées en utilisant une masse molaire moyenne de 60 531 ± 1 g/mol, déterminée à partir de la séquence d'acides aminés de la protéine, et d'une densité de 1,014 ± 0,002 g/mL (k = 2) à 22 °C, déterminée au CNRC en utilisant la solution saline tampon du MRC.

Traçabilité métrologique

Les résultats présentés dans le présent certificat sont traçables au Système international d'unités (SI) au moyen de MRCs du CNRC préparés par gravimétrie, soit APRO-2 (L-proline), ALEU-1 (L-leucine) et APHE-1 (L-phénylalanine), qui ont été utilisés comme étalons de calibration pour la méthode LC–ID–MS/MS [1].

Homogénéité

L'homogénéité du matériau a été analysée au CNRC à l'aide d'un spectrophotomètre ultraviolet-visible. Les résultats d'échantillons d'un nombre représentatif de tubes, choisi à travers la série complète des tubes, ont été évalués en utilisant le modèle d'effets aléatoires Bayésien d'analyse de la variance (BANOVA) [2] et pris en compte comme contribution à l'incertitude des valeurs certifiées.

Stabilité

La stabilité de transport de FLUNP-1 a été évaluée par LC–SEC–UV lors d'une étude de stabilité isochrone à un, sept et quatorze jours afin d'observer des changements lors d'une exposition à différentes températures, soit +40, +20, +4 et –20 °C. Les échantillons de référence ont été maintenus à –80 °C. Des changements dans l'hétérogénéité de la taille des protéines ont été observés après un jour d'entreposage à +4 °C et une diminution significative du signal protéique a été constatée après un jour à +40 °C. Il est donc conseillé de maintenir le matériau congelé jusqu'à son utilisation. Bien que le matériau soit expédié sur de la glace sèche, l'incertitude de la stabilité de FLUNP-1 inclut une estimation de l'instabilité du matériau exposé à une température de +20 °C pendant deux jours pour représenter de potentiels délais d'expédition importants.

La stabilité à long terme de FLUNP-1 a été évaluée à partir de l'étude isochrone décrite ci-dessus, complémentés par des analyses effectuées sur des échantillons conservés à –20 et –80 °C pendant deux et six mois. Une dégradation simple de premier ordre avec un modèle d'Arrhenius a été ajustée aux données afin de prédire la dégradation potentielle de FLUNP-1 après deux ans à –20 °C. Cette composante d'incertitude à long terme a été incluse dans l'incertitude finale de la stabilité de FLUNP-1. Cette estimation constitue une projection conservatrice de l'instabilité potentielle, particulièrement à –20 °C puisque la stabilité à long terme du matériau à cette température n'a pas encore fait l'objet d'une évaluation rigoureuse. Il est donc recommandé de conserver FLUNP-1 dans un congélateur à une température d'approximativement –80 °C.

La stabilité aux cycles de congélation-décongélation (C/D) a également été évaluée par LC-SEC-UV. Les échantillons de référence ont été décongelés comme indiqué dans la section « Instructions de manipulation et d'utilisation ». Les échantillons pour la C/D ont été analysés après avoir subi 1, 2, 3, 4 et 5 cycles supplémentaires avec une température de congélation de –80 °C. Bien qu'aucun changement significatif dans l'hétérogénéité de taille n'ait été observé, une légère diminution du signal protéique total a été constatée à chaque cycle de C/D supplémentaire, ce qui suggère une perte de protéines due à une agrégation ou à une dégradation. Il convient donc de réduire au minimum les cycles de C/D.

Il est à noter que la méthode LC–SEC–UV rapporte uniquement l'hétérogénéité de la taille du matériau et donc, les résultats de méthodes structurelles ou fonctionnelles alternatives peuvent différer.

Incertitude

L'incertitude élargie (U) pour toutes les valeurs est égale à $U = ku_c$, u_c étant l'incertitude type composée calculée conformément au Comité commun pour les guides en métrologie (JCGM) [3] et k étant le facteur de couverture. Un facteur de couverture de $k = 2$ a été appliqué, ce qui correspond à un niveau de confiance d'environ 95 %.

Toutes les sources raisonnables d'incertitude liées aux valeurs certifiées du tableau 1 ont été prises en compte. L'estimation de l'incertitude combinée comprend les incertitudes dues à la caractérisation du lot, à la variation possible inter-unité et à la stabilité du matériau.

Entreposage

Le matériau doit être entreposé à une température de –80 °C. Un entreposage à court terme (< 1 an) à –20 °C est acceptable. L'entreposage prolongé à –20 °C peut causer l'agrégation des protéines.

Instructions de manipulation et d'utilisation

Avant l'ouverture, chaque tube doit d'abord être décongelé à température ambiante jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de cristaux de glace résiduels. Le tube doit ensuite être retourné cinq fois pour s'assurer que la solution est bien mélangée. Pour éviter la formation de mousse, une agitation vigoureuse du tube est déconseillée. Le tube doit ensuite être brièvement centrifugé dans une centrifugeuse afin de retirer tout liquide pouvant adhérer au bouchon. Une fois ouvert, le contenu du tube doit être utilisé immédiatement ou recongelé en aliquotes. Il est recommandé de minimiser les cycles de congélation-décongélation, tel que décrit dans la section « Stabilité ». Il est à noter que le volume de la solution n'est pas certifié. En conséquence, tout le contenu du tube ne peut être dilué de façon volumétrique.

Renseignements sur la santé et la sécurité

Seul un personnel qualifié devrait manipuler ce matériau et des méthodes d'élimination appropriées doivent être suivies. Une Fiche de données de sécurité (FDS) est disponible à l'adresse doi.org/10.4224/crm.2026.flunp-1. Réservé à l'usage du laboratoire uniquement; non destiné à la consommation humaine, aux usages thérapeutiques, aux médicaments, aux usages domestiques ou à tout autre usage.

Période de validité

Les valeurs certifiées sont valides jusqu'en février 2028, pourvu que les conditions d'entreposage et les instructions de manipulation et d'utilisation précisées dans le présent certificat soient respectées.

Système de gestion de la qualité

Le CNRC est l'institut national de métrologie (INM) du Canada et est signataire de l'Arrangement de reconnaissance mutuelle du Comité international des poids et mesures (CIPM MRA). Le CIPM MRA a été développé en réponse à un besoin croissant d'un système ouvert, transparent et complet pour donner aux utilisateurs des informations quantitatives fiables sur la comparabilité des services nationaux de métrologie et de fournir la base technique des accords plus larges négociés pour les échanges internationaux, le commerce et les affaires réglementaires. Notre Système de gestion de la qualité pour les services de mesure et les matériaux de référence certifiés est conforme aux exigences des normes ISO/IEC 17025 et ISO 17034.

Description de la terminologie

Les valeurs certifiées sont celles en lesquelles le CNRC a le plus haut degré de confiance et pour lesquelles toutes les sources connues et présumées d'erreur systématique ont été prises en compte et incluses dans les incertitudes élargies rapportées.

Les valeurs informatives sont celles qui peuvent intéresser les utilisateurs, mais pour lesquelles le CNRC n'a pu fournir suffisamment de renseignements pour inclure une estimation de l'incertitude, ou qui reflètent l'absence de consensus entre différentes méthodes d'analyse.

Informations supplémentaires

Les renseignements bibliographiques et toute autre information technique complémentaire comme la séquence d'acides aminés de la protéine FLUNP-1 sont disponibles à l'adresse doi.org/10.4224/crm.2026.flunp-1.

Références

1. Thibeault M-P, Melanson JE, Stocks BB. Impurity-corrected ^{1}H-qNMR value assignment of amino acid certified reference materials for SI-traceable protein quantitation. Accred Qual Assur. 2026; in press. https://doi.org/10.1007/s00769-026-01714-9
2. van der Veen AMH. Bayesian analysis of homogeneity studies in the production of reference materials. Accred Qual Assur. 2017; 22 (6): 307–319. https://doi.org/10.1007/s00769-017-1292-6
3. JCGM 100:2008. Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement. Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM); 2008. https://doi.org/10.59161/JCGM100-2008E

Auteurs

Bradley Stocks et Marie-Pier Thibeault

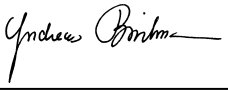
Centre de recherche en métrologie, Conseil national de recherches Canada, 1200, chemin Montréal, Ottawa (Ontario) K1A 0R6, Canada

Remerciements

Les membres du personnel du CNRC suivants ont contribué à la production et à la certification de FLUNP-1: Jennifer Bates, Garnet McRae, Joshua Marleau-Gillette et Juris Meija.

Date d'émission : Septembre 2026

Version du document : 20260928

Approuvé par : 

Andreas Brinkmann, Ph.D.
Chef d'équipe, Métrologie chimique – Organique

Ce certificat est valide uniquement si le matériau correspondant a été obtenu directement auprès du CNRC ou d'un revendeur autorisé. Les utilisateurs doivent s'assurer que le certificat à leur disposition est à jour. Pour les mises à jour, veuillez consulter le site suivant : doi.org/10.4224/crm.2026.flunp-1.

Veuillez adresser tout commentaire, renseignement ou demande au :

Conseil national de recherches Canada
Centre de recherche en métrologie
1200, chemin Montréal
Bâtiment M-36, salle 1029
Ottawa (Ontario) K1A 0R6

Téléphone : 613-993-2359
Télécopieur : 613-993-8915
Courriel : CRM.sales-ventes.MRC@nrc-cnrc.gc.ca

Canada