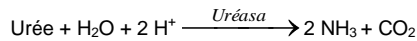


### Détermination quantitative d'urée IVD

Conserver à 2-8°C

#### PRINCIPE DE LA METHODE

L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH<sub>3</sub>) et en anhydride carbonique (CO<sub>2</sub>). L'ammoniac formé est incorporé à l'α-cétoglutarate par l'action du glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH à la NAD<sup>+</sup>:



$2 \text{NH}_3 + \alpha\text{-Cétoglutarate} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+ + \text{L-Glutamate}$   
La diminution de la concentration de NAD<sup>+</sup> dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé <sup>1</sup>.

#### SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urée est le résultat final du métabolisme des protéines; elle se forme dans le foie à partir de sa destruction. Il peut apparaître un taux d'urée élevé dans le sang (urémie) dans le cadre de régimes excessives en protéines, de maladies d'insuffisances cardiaques, d'hémorragies, d'hypovolémie et d'obstructions rénales <sup>1,4,5</sup>. La diagnostique clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

#### REACTIFS

<b>R 1</b>	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampon	α-Cétoglutarate	6 mmol/L
<b>R 2</b>	Uréase	3750 U/L
Enzymes	Glutamate déshydrogénase (GLDH)	6000 U/L
	NADH	0,32 mmol/L
<b>UREA CAL</b>	Patron primaire de détection d'urée 50 mg/dL	

#### PREPARATION

Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) le contenu d'une capsule d'enzymes de R 2 dans un flacon de tampon R 1. Refermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout. Stabilité: 6 semaines à 2-8°C ou 7 jours à 15-25°C.

#### CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

#### Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 340 ≤ 1,00.

#### MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 340 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire <sup>(Remarque 2)</sup>.

#### ECHANTILLONS

- Sérum ou plasma héparinisé <sup>1</sup>: Ne pas utiliser de sels d'ammonium ou de fluorure comme anticoagulants.
- Urine<sup>1</sup>: Diluer l'échantillon à 1/50 avec de l'eau distillée. Mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution); éviter l'augmentation de bactéries en maintenant le pH < 4. L'urée est stable 5 jours à 2-8°C.

#### PROCEDURE

- Conditions de test:  
Longueur d'ondes: ..... 340 nm  
Cuvette: ..... 1 cm d'éclairage  
Température: ..... 37/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Étalon	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon <sup>(Remarque 1,3,4)</sup> (μL)	--	10	--
Echantillon	--	--	10

- Mélanger et consulter les absorptions aux 30 s (A<sub>1</sub>) et aux 90 s (A<sub>2</sub>).
- Calculer: ΔA = A<sub>1</sub> - A<sub>2</sub>.

#### CALCULS

$$\frac{(A) \text{Echantillon}}{(A) \text{Étalon}} \times 50 (\text{Étalon conc.}) = \text{mg/dL d'urée dans l'échantillon testé}$$

10 mg/L d'urée BUN divisé par 0,466 = 21 mg/L d'urée = 0,36 mmol/L d'urée<sup>1</sup>.

**Facteur de conversion:** mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

#### CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

#### VALEURS DE REFERENCE<sup>1</sup>

Sérum: de 15 à 45 mg/dL (2.49-7.49 mmol/L)

Urine: de 20 à 35 gr/24 heures

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

#### CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

*Gamme de mesures:* Depuis la limite de détection 1,82 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité 500 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

*Précision:*

Moyenne (mg/dL)	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
	41,9	146	39,96	144
SD	0,89	2,55	1,10	2,79
CV (%)	2,13	1,74	2,76	1,93

*Sensibilité analytique:* 1 mg/dL = 0,0016 A.

*Exactitude:* Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,99.

Equation de la Courbe de régression: y=0,99x + 0,01

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

#### INTERFERENCES

Comme anticoagulant, il est conseillé d'avoir recours à l'héparine. En aucun cas il ne faut utiliser de sels d'ammonium ou de fluorure<sup>1</sup>.

Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de l'urée<sup>2,3</sup>.

#### REMARQUES

- UREA CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de la manipuler avec précaution. En effet, il peut facilement être contaminé.
- Le matériel utilisé ainsi que l'eau distillée ne doivent contenir ni ammonium ni sels<sup>1</sup>.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

#### BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

#### PRESENTATION

Ref: 1001332  Cont. R1: 10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL  
Ref: 1001333  Cont. R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL