

DÉTERMINATION DE L'URÉE DANS LE SANG ET URINE

Introduction

L'uréogénèse représente le processus de transformation de l'ammoniaque en urée, avec une signification dans son élimination de l'organisme. L'urée est une substance à la toxicité très réduite et très diffusible, qui est facilement éliminée dans les urines. Par conséquent, l'uréogénèse doit être considéré comme un processus de transformation pour éliminer l'ammoniac. Il est l'une des activités de synthèse les plus importantes réalisées dans le corps, comprenant quotidiennement de 0,3 à 0,6 moles d'urée, ce qui correspond à environ 20-35 grammes de substance.

L'uréogénèse a lieu dans une série de cinq réactions couplées. L'uréogénèse est un processus en partie cyclique, en raison de l'un des sous-produits de la cinquième réaction - ornithine - est le réactif dans la réaction seconde. Le processus a une localisation spécifiquement hépatique ; il est réalisé partiellement dans la matrice mitochondriale (les premières deux réactions), puis dans le cytoplasme (trois réactions) – due à la présence, ici, de toutes les enzymes impliquées dans la synthèse. L'urée résultée diffuse dans le plasma, le sang la transportant vers les reins, la principale voie d'élimination ; de petites quantités d'urée sont éliminées par l'intermédiaire des glandes sudoripares et le tractus intestinal, ce qui peut être exacerbée dans des conditions pathologiques.

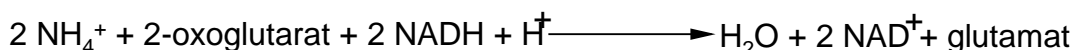
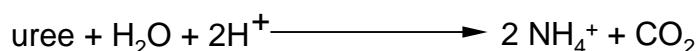
Application pratique

A. Détermination de l'urée par la méthode enzymatique – test optique

Après l'enlèvement des protéines du sang par précipitation, dans le surnageant reste un certain nombre de substances protéiques contenant de l'azote (azote non protéique ou restant). Ces substances sont l'urée (15 - 50 mg%), acide urique (2 - 8 mg%), la créatinine (0,7 - 1,2% mg), la créatine, acides aminés, la choline, les polypeptides, les nucléotides, l'ammoniac, le glutathion, la histamine, etc. Parmi eux, une grande importance a la détermination de l'urée, la créatinine et l'acide urique.

Principe

L'urée est hydrolysée en présence d'uréase en ammoniaque et en CO_2 . L'ammoniac réagit avec le α -cétoglutarate et le NADH, en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH), avec la formation de glutamate et NAD^+ . La réaction est suivie en mesurant l'absorption de rayonnement à 340 nm (surveillance la transformation du NADH , H^+ dans le NAD^+). La diminution de l'absorption de rayonnement due à la réduction de la concentration de NADH par unité de temps est proportionnelle à la concentration de l'urée.



Réactifs

1. Réactif 1 (tampon) contenant du Tris, 80 mmole/l, pH 8,0, α -cétoglutarate 5 mmole/l.
2. Réactif 2 (enzyme) contient uréase > 100 U/ml, GLDH 6000 U/l, NADH 0,32 mmole/l.
3. Réactif 4 (étalon): urée 50 mg/l (8,325 mmole/l).

4. Réactif de travail: Préparez le réactif en ajoutant 1 bouteille de réactif 2 dans un flacon de réactif 1 (tampon), puis mélangez doucement pendant 30 minutes. La solution est stable pendant 14 jours à une température de 2-8°C ou 3 jours à 20-25°C.

Echantillons biologiques

- Sérum, plasma (récoltées sur anticoagulant – héparine ; on n'utilise pas anticoagulants contenant du fluorure - il inhibe l'activité de l'uréase, ou les ions ammonium – ils interfèrent avec le dosage)
- L'urine - est diluée avec de l'eau bidistillée dans un rapport de 1:50

Mode opératoire

Pipetez dans deux tubes à essai conformément au tableau:

Réactifs, µl	Etalon	Probe
Réactif de travail	1000	1000
Etalon dilué 1/10	100	–
Probe diluée (sérum 1/10, urine 1/50)	–	100

Equilibrez le spectrophotomètre avec la cuvette vide.

Exécutez séparément l'analyse des échantillons et des standards, la méthode étant cinétique. Après le mélange des réactifs, lisez, pour l'étalon, en dynamique, son absorption de rayonnement à 340 nm, au temps 0 et 1 minute et 30 secondes. Préparez les probes (sérum et l'urine, respectivement) et lisez l'absorption de rayonnement à 340 nm de la même manière que pour l'étalon.

Calcul

Concentration d'urée dans le sérum = $\Delta E_P / \Delta E_S \times 50$ (mg/dl)

ou: ΔE_P = variation d'absorption de rayonnement de la probe
 ΔE_S = variation d'absorption de rayonnement de l'étalon
 50 mg/dl = concentration d'étalon

Concentration d'urée dans l'urine (grammes urée/urine de 24 heures):

$$\frac{\Delta E_P}{\Delta E_S} \times 50 \text{ (mg/dl)} \times \frac{\text{diureze (l)}}{0,1} \times 50 = \text{g urée/urine de 24 ore}$$

ou: ΔE_P = variation d'absorption de rayonnement de la probe
 ΔE_S = variation d'absorption de rayonnement de l'étalon
 50 mg/dl = concentration d'étalon

Valeurs normales

Sérum: 15 – 45 mg/dl (2,5 – 7,51 mmoles/l)

Urine de 24 heures: 20 – 36 g (330 – 600 mmoles)

Variations physiologiques dans le sang

L'urée sanguine est dépendante de la prise protéique alimentaire, du volume d'urine excrétée et de l'état fonctionnel du rein. La variation de l'urée sanguine selon l'apport en protéines est illustrée dans le tableau ci-dessous:

Apport protéique g/kg masse corporelle / jour	Valeurs normales mg urée/100 ml sérum
0,5	13 – 25
1,5	24 – 52
2,5	31 – 59

Variations pathologiques dans le sang

En général, la valeur d'urée dans le sang varie proportionnellement à l'azote non protéique.

Niveaux accrus se trouvent dans:

- insuffisance rénale aiguë et chronique (dans ce cas l'urée urinaire est faible)
- anurie extrarénale : insuffisance cardiaque, maladies infectieuses aiguës, hémorragie gastro-intestinale, encéphalite, diabète, maladie d'Addison, déshydratation massive par des vomissements et diarrhée (azotémie par le manque de sel), etc.

Niveau faibles se trouvent dans:

- Le stade terminal de l'insuffisance hépatique décompensée (coma hépatique) ; la fonction hépatique est perturbée seulement dans le cas des dommages profonde du parenchyme hépatique.

Variations physiologiques dans l'urine

L'urée urinaire varie considérablement en fonction de l'alimentation de telle sorte que, pris isolément, la valeur n'est pas cliniquement significative. Il augmente dans un régime riche en protéines et diminue dans un régime végétarien, de sorte que l'excrétion urinaire de l'urée est de 20-35 g/jour pour un régime alimentaire normal et seulement 10 grammes/jour pour une alimentation dépourvue de protéines. Reporté à l'urée sanguine et le débit urinaire, le dosage de l'urée dans l'urine est utilisé en particulier dans l'établissement du coefficient d'élimination.

Variations pathologiques dans l'urine

Valeurs élevées sont rencontrées dans l'hypercatabolisme protéique.

Valeurs faibles se trouvent dans l'insuffisance rénale aiguë et chronique et une décompensation hépatique.