

Utilisation

Détermination quantitative de l'azote uréique dans le sérum à l'aide de l'analyseur Yumizen C560.

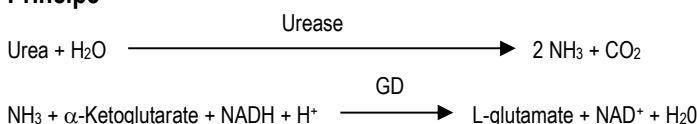
Signification Clinique

La détermination de l'azote uréique dans le sérum est largement utilisée comme test de dépistage de la fonction rénale. Lorsqu'elle est utilisée en conjonction avec la détermination de la créatinine dans le sérum, elle est utile dans le diagnostic différentiel des trois types d'azotémie : pré-rénale, rénale et post-rénale¹.

Historique

L'urée a été déterminée par la méthode directe² où l'urée se condense avec le diacétyle pour former un chromogène, et par la méthode indirecte où l'ammoniac est mesuré en tant que produit de l'action de l'uréase sur l'urée³. L'ammoniac libéré a été mesuré à l'aide du réactif de Nessler⁴ et par la réaction de Berthelot⁵. Talke et Schubert ont introduit une procédure totalement enzymatique en 1965 en utilisant de l'uréase et de la glutamate déshydrogénase⁶. La présente procédure est basée sur une modification de leur méthode.

Principe



L'urée est hydrolysée par l'uréase pour produire de l'ammoniac et du dioxyde de carbone. L'ammoniac libéré réagit avec l'alpha-cétoglutarate en présence de NADH pour donner du glutamate. Une quantité équimolaire de NADH subit une oxydation pendant la réaction, ce qui entraîne une diminution de l'absorbance qui est directement proportionnelle à la concentration d'azote uréique dans l'échantillon.

Composition du réactif

Concentrations en réactif de travail : Uréase (Jack Bean) >15 000 U/L, GLDH (Bovin) >200 U/L, ADP >0,6 mM, alpha-cétoglutarate 3,4 mM, NADH >0,28 mM, tampon, pH 7,8 ± 0,1, stabilisants, azoture de sodium (0,28 %) comme conservateur

Préparation du réactif

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Stockage des réactifs

Stocker les réactifs R1 et R2 à 2-8°C. Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration figurant sur l'étiquette lorsqu'ils sont stockés comme indiqué. Les études du fabricant ont montré que le réactif est stable pendant 30 jours une fois placé dans le carrousel réfrigéré des réactifs (2-10°C), cependant la stabilité du réactif peut varier en fonction des conditions individuelles de laboratoire.

Détérioration du réactif

Le réactif ne doit pas être utilisé si le blanc de réactif a une absorbance inférieure à 1,0 à 340 nm.

Précautions et Dangers

1. Ce réactif est uniquement destiné à un usage diagnostic in vitro.
2. Éviter d'ingérer le réactif car sa toxicité n'a pas encore été déterminée.
3. Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (0,28%) en tant que conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec la plomberie en cuivre ou en plomb pour former des azides métalliques explosifs. Au moment de l'élimination, rincer abondamment avec de l'eau.
4. Tous les échantillons doivent être manipulés conformément aux bonnes pratiques de laboratoire en prenant les précautions appropriées telles que décrites dans le manuel CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2e éd., 1988, publication HHS n° (CDC) 88-8395.

Dangers :

R1 : Classifications des dangers : Toxicité spécifique pour un organe cible, exposition unique ; système respiratoire (Catégorie 3)

Etats des dangers : H335 : Peut causer une irritation respiratoire

Consignes de précaution : **Prévention** : P261 Éviter de respirer la poussière/les fumées/le gaz/les vapeurs/les pulvérisations. P271 Utiliser seulement dans une zone bien ventilée. **Intervention** : P312 Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. P304 + P340 EN CAS D'INHALATION : transporter la victime à l'air frais et la maintenir au repos dans une position confortable pour respirer. **Stockage** : P403 + P233 Conserver dans un endroit bien ventilé. Garder le récipient hermétiquement fermé. **Élimination** : P501 : Éliminer le contenu dans le système d'égoût après dilution avec de grandes quantités d'eau, si cela est conforme aux réglementations locales.

R2 : Classification de danger : Toxicité aiguë, dermique (Catégorie 4)

Déclaration de danger : H312 : Nocif par contact avec la peau.

Consignes de précaution : **Prévention** : P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/une protection oculaire/une protection du visage.

Intervention : P312 Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. P363 Laver les vêtements contaminés avant de les réutiliser.

P302 + P352 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon. **Élimination** : P501 : Éliminer le contenu dans le système d'égoût



Pointe kit de réactifs (BUN) azote uréique

après dilution avec de grandes quantités d'eau, si cela est conforme aux réglementations locales. **Veillez-vous référer à la fiche de données de sécurité de ce produit (SDS-B7552) disponible en appelant le 1-734-487-8300.**

Collecte et stockage d'échantillons

1. Le sérum est recommandé.
2. Le plasma contenant des anticoagulants ne doit pas être utilisé.
3. Tout matériel entrant en contact avec l'échantillon doit être exempt d'ammoniac et de métaux lourds⁷.
4. L'urée dans le sérum est signalée stable pendant soixante-douze heures au réfrigérateur à 2-8°C. Les sérums non réfrigérés doivent être utilisés dans les huit heures.
5. La collecte d'échantillons doit être effectuée conformément à NCCLS M29-T2⁸. Aucune méthode ne peut offrir une assurance complète que les échantillons de sang humain ne transmettent pas d'infection. Par conséquent, tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Interférences

1. L'action de l'uréase est inhibée par le fluorure.
2. Les échantillons présentant des niveaux anormaux d'ammoniac donnent des résultats BUN faussement élevés.
3. La bilirubine jusqu'à un niveau de 20 mg/dl a été trouvée pour présenter une interférence négligeable (<2 %) dans ce dosage.
4. L'hémoglobine jusqu'à un niveau de 200 mg/dl a été trouvée pour présenter une interférence négligeable (<5 %) dans ce dosage.
NOTE : Le niveau de BUN était de 46,0 mg/dl pour l'étude de la bilirubine et de 46,3 mg/dl pour l'étude de l'hémoglobine.
5. Pour une revue complète des interférences médicamenteuses, voir Young, et al.⁹

Matériaux fournis

Réactif enzymatique à l'urée (R1), Réactif à coenzyme à l'urée (R2)

Matériaux requis mais non fournis

1. Analyseur Yumizen C560
2. Manuel d'utilisation Yumizen C560
3. Calibrateur de chimie, numéro de catalogue C7506-50
4. Contrôle de chimie, numéro de catalogue C7592-100

Limites

Les échantillons ayant des valeurs supérieures à 150 mg/dl doivent être dilués avec du sérum physiologique à 0,9 % dans un rapport de 1 :1, re-testés et les résultats multipliés par deux.

Calibration

Utilisez le calibrant de chimie Pointe (numéro de catalogue : C7506-50). La méthode doit être calibrée selon les instructions du fabricant de l'instrument. Si les résultats de contrôle sont hors des limites, le test peut nécessiter une nouvelle calibration. Dans des conditions de fonctionnement typiques, les études de stabilité de la calibration du fabricant ont montré que la courbe de calibration sera stable pendant au moins 14 jours.

Contrôle de qualité

La validité de la réaction doit être surveillée en utilisant des sérums de contrôle ayant des valeurs BUN normales et anormales connues. Ces contrôles doivent être effectués au moins à chaque série dans laquelle des dosages d'urée sont effectués. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre fréquence de détermination de contrôle de qualité. Les exigences de contrôle de qualité doivent être effectuées conformément aux réglementations locales, national ou aux exigences d'accréditation.

Valeurs attendues :

7-18 mg/dl Il est fortement recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de référence.

Performance :

1. Plage d'analyse : 1-150 mg/dl. Les échantillons qui dépassent 150 mg/dl doivent être dilués avec un volume égal de solution saline et réanalysés. Multipliez le résultat par deux.
2. Comparaison : Une étude a été réalisée entre le Yumizen C560 et un analyseur similaire utilisant cette méthode, avec les résultats suivants :

Méthode	BUN
N	84
Moyenne de l'urée sanguine (mg/dL)	27.7
Plage de valeurs de l'urée sanguine (mg/dL)	5-149
Écart-type de l'urée sanguine	29.0
Equation de régression	$y = 0.994x - 0.7$
Coefficient de corrélation	0.9962

3. Précision : Des études de précision ont été réalisées à l'aide de l'analyseur Yumizen C560 en suivant une modification des lignes directrices contenues dans le document NCCLS EP5-T2.¹⁰

Sur 1 journée				Total			
Échantillons	BAS	MOYEN	HAUT	Échantillons	BAS	MOYEN	HAUT
N	20	20	20	N	40	40	40
Moyenne	12.7	47.4	131.9	Moyenne	13.0	48.8	134.3
Écart-type de l'urée sanguine	0.7	0.7	0.9	Écart-type de l'urée sanguine	0.8	1.7	2.5
Coefficient de Variation (%)	5.2%	1.4%	0.6%	Coefficient de Variation (%)	7.2%	2.5%	1.9%

1. Sensibilité : Limite de détection 2EC (95% Conf) = 1 mg/dL

References

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia W.B. Saunders (1976).
2. Fearon, W.R., Biochem J. 331:902 (1939).
3. Marshall, E.K., Jr., J. Biol. Chem. 15:487 (1913).
4. Gentzkow, C.J., J. Biol. Chem. 143:531 (1952).
5. Fawcett, J.K., Scott, J.E., J. Clin. Path. 13:156 (1960).
6. Talke, H., Schubert, G.E., Klin. Wschr. 43:174 (1965).
7. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia W.B. Saunders, p991 (1976).
8. NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
9. Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
10. NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Pointe kit de réactifs (BUN) azote uréique

PARAMETRES DE CHIMIE

Chem:	Urea Nitro	No.:	206	Sample Type:	Serum
Chemistry:	Urea Nitrogen (Liquid)			Print Name:	Urea Nitro
Reaction Type:	Fixed Time			Reaction Direction:	Negative
Pri Wave:	340			Sec Wave:	660
Unit:	mg/dL			Decimal:	0
Blank Time:	47 49			Reaction Time:	55 63
	Sample Vol.	Aspirated	Diluent	Reagent Vol.	Diluent
Standard:	1.5 ul	-- ul	-- ul	R1:	150 ul -- ul
Decreased:	-- ul	-- ul	-- ul	R2:	-- ul -- ul
Increased:	-- ul	-- ul	-- ul	R3:	-- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Sample Blank	<input checked="" type="checkbox"/> Auto Rerun		R4:	-- ul -- ul
<u>Slope/Offset Adjustment</u>					
Slope: 1		Offset: 0			

Linearity Range (Standard)	1 150	Linearity Limit:
Linearity Range (Decreased)	___ ___	Substrate Depletion:
Linearity Range (Increased)	___ ___	Mixed Blank Abs:
R1 Blank Abs:	___ ___	Uncapping Time
Blank Response:	___ ___	Reagent Alarm Limit:
Twin Chemistry:		<input type="checkbox"/> Enzyme Linear Extension
<input type="checkbox"/> Prozone Check	<input type="radio"/> Rate Check	<input type="radio"/> Antigen Addition
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:		
PC:	ABS:	

PARAMETRE DE CALIBRATION

Calibrator Definition						
Calibrator:	*		Lot No.:	*		
Exp Date:	*					
Carousel		Pos				
Sample Carousel 1	*					
Sample Carousel 2						
Sample Carousel 3						
Reagent/Calibration						
<u>Calibrator</u>	<u>Pos</u>	<u>Lot No</u>	<u>Exp Date</u>	<u>Chem</u>	<u>Conc</u>	<u>Unit</u>
Water	W	*	*	BUN	0	mg/dL
Chemistry Calibrator	*	*	*	BUN	*	mg/dL
Calibration Setup						
Chem:	Urea Nitro					
<u>Calibration Settings</u>						
Math Model:	Two-Point Linear					
Factor:		Replicates:	2			
<u>Acceptance Limits</u>						
Cal Time:	336	Hour				
Slope Diff:	--	SD:	--			
Sensitivity :	--	Repeatability:	--			
Deter Coeff:	--					
<u>Auto Calib.</u>						
<input type="checkbox"/> Bottle Changed	<input type="checkbox"/> Lot Changed	<input type="checkbox"/> Cal Time				

Il est recommandé d'analyser deux niveaux de matériel de contrôle par jour.

*Indique un paramètre défini par l'utilisateur.

Pointe kit de réactifs (BUN) azote uréique



14-B7552-600



Manufactured by HORIBA Instruments Inc.- Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



2°C 8°C



Symboles



Date limite utilisation (AAAA-MM-JJ)



numéro de lot



Numéro de catalogue



Fabricant



dispositif médical de diagnostic in vitro



Température de conservation



Consulter le mode d'emploi



marquage CE



Représentant autorisé dans la Communauté européenne

Fabriqué par HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188



Représentant autorisé européen :
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53
1030 Bruxelles, BELGIQUE

Tél : (32)2.732.59.54 Fax : (32)2.732.60.03 Email : mail@obelis.net

Certifié pour la fabrication de réactifs

Les réactifs Pointe sont certifiés pour être fabriqués selon des paramètres spécifiés. Tout produit réactif Pointe ne répondant pas aux spécifications jusqu'à sa date d'expiration indiquée sera remplacé immédiatement sans frais.

Rev. 11/23 P803-B7552-560-FR