



Article scientifique

Article

1933

Published version

Open Access

This is the published version of the publication, made available in accordance with the publisher's policy.

Contribution à l'étude du microdosage de l'urée dans le sang

Wenger, Paul Eugène Etienne; Cimerman, Chevel; Maulbetsch, Annie

How to cite

WENGER, Paul Eugène Etienne, CIMERMAN, Chevel, MAULBETSCH, Annie. Contribution à l'étude du microdosage de l'urée dans le sang. In: Mikrochemie, 1933, vol. 14, p. 132–140. doi: 10.1007/BF02740072

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:106107>

Publication DOI: [10.1007/BF02740072](https://doi.org/10.1007/BF02740072)

© The author(s). This work is licensed under a Other Open Access license

<https://www.unige.ch/biblio/aou/fr/guide/info/references/licences/>

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU MICRODOSAGE DE L'URÉE DANS LE SANG.

Par

P. WENGER, CH. CIMERMAN et A. MAULBETSCH.

Laboratoire de Chimie Analytique de l'Université de Genève.

(Eingelangt am 21. Juli 1933.)

I. Etude bibliographique.

Les méthodes de dosage de l'urée par le xanthydrol.

Le dosage de l'urée est très important au point de vue clinique, aussi a-t-il fait l'objet d'une foule de travaux. Les nombreuses méthodes qui en ont résulté reposent sur les trois réactions suivantes:

- a) Décomposition de l'urée par l'hypobromite.
- b) Décomposition de l'urée par un ferment, l'uréase.
- c) Précipitation de l'urée par le xanthydrol.

Les méthodes à l'hypobromite et à l'uréase, qui présentent de grands avantages pour les dosages cliniques, ne sont pas aussi précises que les procédés au xanthydrol. C'est FOSSE, qui après une longue série de travaux¹, a établi que le xanthydrol précipite quantitativement et uniquement l'urée dans les liquides biologiques additionnés d'acide acétique. Le composé insoluble formé est la dixanthylurée ou uréine, de formule:



dont le poids moléculaire est 7 fois plus élevé que celui de l'urée. Cette réaction est à la base de plusieurs procédés de dosage gravimétriques, volumétriques et colorimétriques.

Les procédés gravimétriques consistent à précipiter

l'urée par une solution acétique ou méthylique de xanthydrol, dans le sérum désalbuminé et additionné de son volume d'acide acétique glacial. La condensation dure de $\frac{1}{2}$ heure à 3 heures suivant les quantités mises en jeu. Après filtration, lavage et dessiccation, la dixanthylurée est pesée; son poids divisé par 7 donne le poids de l'urée.

Le procédé original de FOSSE¹, légèrement modifié par HUGOUNENQ et MOREL, FREJACQUE² et LAUDAT³ s'applique à 10 cc. de sérum ce qui exclut son emploi pour des dosages répétés. Aussi plusieurs auteurs ont-ils cherché à le transformer en microméthode applicable à des quantités de sérum beaucoup plus faibles. NICLOUX et WELTER⁴ opèrent sur 1, 0,5 ou même 0,3 cc. de sérum qu'ils diluent 7 fois. Le très faible précipité d'uréine est filtré sur un microcreuset de NEUBAUER en platine et pesé sur une microbalance; son poids donne le poids d'urée contenu dans 1 cc. de sérum. GUILLEMET et GOLAZ⁵ effectuent la précipitation directement dans un filtre d'Jéna en verre. POLONOWSKI et AUGUSTE⁶ ont signalé qu'en dosant l'urée sur du sang fluoré, on obtient des résultats trop forts; il faut éliminer le fluorure par l'acétate de calcium.

Pour éviter l'emploi de la microbalance, quelques auteurs ont établi des méthodes volumétriques dans lesquelles l'uréine, précipitée dans les mêmes conditions que précédemment, est estimée soit par oxydimétrie, soit par acidimétrie.

CORDEBARD⁷ oxyde la dixanthylurée par le mélange sulfochromique dont il titre l'excès par une solution ferreuse, alors qu'ALLEN et LUCK⁸ et CUNY ROBERT⁹ utilisent, les premiers

¹ FOSSE, C. R. Acad. Sciences, 158, 1076, 1432 (1914); 157, 948 (1913).

FRENKEL, Ann. Chim. anal., 234 (1920).

² HUGOUNENQ et MOREL, Ann. Chim. anal., 68 (1914).

FREJACQUE, Ann. Chim. anal., 69 (1914).

³ LAUDAT, Ann. Chim. anal., 18 (1928).

⁴ NICLOUX et WELTER, Bull. Soc. Chim. biol., 4, 128 (1922).

⁵ GUILLEMET et GOLAZ, C. R. Soc. Biol., 101, 726 (1929); Ann. Chim. anal., 106 (1930).

⁶ POLONOWSKI et AUGUSTE, C. R. Soc. Biol., 86, 1027 (1922).

⁷ CORDEBARD, Bull. Soc. Chim. biol., 10, 461 (1928).

⁸ ALLEN et LUCK, Journ. Biol. Chem., 82, 696 (1929).

⁹ CUNY ROBERT, Bull. Soc. Chim. biol., 12, 171 (1930).

le bichromate de potassium en présence d'iodure de potassium, le second l'iodate de potassium, et titrent l'iode libéré par l'hypo-sulfite de sodium. Un procédé plus rapide, mais peu précis, consiste à décolorer la solution d'urée dans l'acide sulfurique par le permanganate¹⁰.

BOIVIN¹¹ dose l'azote du précipité par un micro-KJELDAHL ou le carbone par la microméthode de NICLOUX.

Dans les méthodes colorimétriques, de BEATTIE¹² et de SHUNIDI¹³, on compare la coloration de la solution sulfurique de dioxanthylurée avec celle d'étalons.

Enfin si l'on fait agir le xanthidrol directement sur le sérum non désalbuminé, il se forme une suspension d'urée qui convient à un dosage néphélométrique¹⁴.

L'emploi du xanthidrol pour le dosage de l'urée, étudié par MESTREZAT¹⁵, fournit des résultats rigoureux, à condition d'opérer sur du sérum dont le taux en urée a été amené à 0,50 gr. litre environ et d'utiliser une quantité de solution à 10% de xanthidrol égale au dixième de la solution acéto-urée à traiter. La précision des résultats dépend aussi de la pureté des réactifs qui doivent être soigneusement contrôlés. L'inconvénient de la méthode réside dans la difficulté de se procurer du xanthidrol frais; ce réactif s'oxydant facilement ne peut être conservé plus de deux semaines.

II. Etude de quelques microméthodes de dosage de l'urée dans le sang.

Introduction.

Les microméthodes de dosage de l'urée sanguine au moyen du xanthidrol permettent d'obtenir des résultats très précis avec une très faible quantité de sérum et sont par là appelées à rendre de grands services dans tous les cas où l'on ne dispose que de

¹⁰ LUCK, Journ. Biol. Chem., 79, 211 (1928).

¹¹ BOIVIN, Bull. Soc. Chim. biol., 10, 684 (1928).

¹² BEATTIE, Biochem. Journ., 22, 711 (1928).

¹³ SHUNIDI, C., 1930, II, 1894.

¹⁴ AUGUSTE, C. R. Soc. Biol., 89, 991 (1923); 93, 639 (1925).

¹⁵ MESTREZAT JANET, Journ. Pharm. Chim., 22, 369 (1920).

très peu de sang pour effectuer ce dosage. Leur inconvénient est d'être assez longues et de nécessiter des appareils souvent coûteux. C'est sur ces deux points que nous avons apporté quelques améliorations. Nous décrirons tout d'abord rapidement le matériel de microanalyse que nous avons utilisé dans nos recherches.

Pour la filtration, nous employons:

a) Un microfiltre en porcelaine¹⁶, ¹⁸ provenant de la Staatliche Porzellan Manufactur Berlin, composé d'un tube (diamètre int. 1 mm., ext. 3 mm.) de 50 mm. de longueur et terminé à une de ses extrémités en forme de cupule où vient se placer une plaque de porcelaine poreuse (diam. 10 mm.). Ce filtre est très résistant à la température et peut être chauffé au rouge; son poids est inférieur à un gramme.

b) Un filtre en verre¹⁶, ¹⁹ composé d'un tube de verre légèrement conique (diam. intérieur au sommet 1 mm., à la base 3 mm.) de 70 mm. de longueur. A 5 mm. de la base, l'ouverture intérieure est étranglée et réduite à un diamètre de 0,1 à 0,2 mm.; cela forme une petite cupule au fond de laquelle on place une couche d'amiante de 1 mm. environ d'épaisseur. L'amiante a été purifiée au préalable par un traitement à l'acide chlorhydrique bouillant, puis lavée jusqu'à élimination des ions chlore.

L'appareil à filtrer¹⁹ comprend en outre un tube en U (diam. intérieur 1 mm.): une extrémité est reliée au filtre de porcelaine ou de verre; l'autre plonge à travers un bouchon de caoutchouc, dans un tube à essais muni d'une tubulure latérale en communication avec la trompe à eau. S'il s'agit de recueillir le filtrat, ce tube à essai est remplacé par un récipient cylindrique¹⁷ de 150 cc. environ également muni d'une tubulure latérale et à l'intérieur duquel on place soit un petit cylindre, soit un microbecher où vient tomber goutte à goutte le filtrat que l'on peut recueillir ainsi intégralement. Pour filtrer, il suffit de placer le becher contenant le précipité au-dessous du filtre et d'aspirer avec la trompe. Ce dispositif permet de filtrer et de laver très rapidement les précipités très fins.

¹⁶ HAUSLER, Ztschr. analyt. Chem., 64, 361 (1924).

¹⁷ BENEDETTI-PICHLER, Ztschr. analyt. Chem., 64, 409 (1924).

¹⁸ SCHWARZ-BERGMAMPF, Ztschr. analyt. Chem., 69, 321 (1926).

¹⁹ EMICH, Mikrochemisches Praktikum, pages 63, 65, 66 (1931).

Pour la précipitation, on utilise des microbechers en verre d'Iéna de 15 mm. de diamètre, 45 mm. de hauteur et 7—8 cc. de volume.

La dessiccation a lieu dans l'étuve de BENEDETTI-PICHLER¹⁹ dans laquelle on fait passer un faible courant d'air sec et où l'on place ensemble le filtre et le becher qui a servi à la précipitation.

1. Dosage gravimétrique

Etude du procédé NICLOUX-WELTER⁴.

L'urée est précipitée par une solution méthylique de xanthidrol dans le sérum désalbuminé. Le précipité de dixanthylurée est filtré sur un creuset de NEUBAUER en platine et pesé sur une microbalance.

Nous avons appliqué la technique longuement décrite par les auteurs à une solution d'urée à 0,5 gr./litre préparée à partir d'urée desséchée dans le vide sur l'acide sulfurique, et dosée simultanément par la macrométhode de FOSSE:

NICLOUX-WELTER

0,52 gr./litre

0,53

0,505

FOSSE

0,501 gr./litre

La méthode est exacte et pour rendre son emploi plus facile, surtout pour les dosages en série, nous avons substitué au creuset de NEUBAUER le microfiltre en porcelaine décrit plus haut.

Modification du procédé NICLOUX-WELTER.

Réactifs nécessaires:

1. Acide acétique glacial exempt d'acides minéraux.

2. Réactif de TANRET:	HgCl ₂	2,71 gr.	} dans 100 cc. eau
	KI	7,2 gr.	
	CH ₃ COOH glacial	66,6 cc.	

3. Solution à 5% dans l'alcool méthylique, à préparer au moment de l'emploi, de xanthidrol frais.

4. Solutions de lavage: a) Alcool éthylique à 95° saturé de dixanthylurée.

b) Eau saturée de dixanthylurée.

Mode opératoire :

Verser dans un tube à essais 1 cc. de sérum, 5 cc. d'eau, 1 cc. de réactif de TANRET; mélanger et filtrer au bout de 5 minutes. Prélever 1 cc. du filtrat, le placer dans un microbecher avec 1 cc. d'acide acétique glacial et 0,4 cc. de la solution de xanthidrol; mélanger avec une baguette de verre très fine. La précipitation commence au bout de 3 minutes environ. Laisser reposer une heure en agitant de temps à autre pendant les dix premières minutes. Filtrer ensuite avec le filtre en porcelaine; laver 2 fois avec 4—6 gouttes de a, 2 fois avec 3—4 gouttes de b, nouveau 2 fois avec 3—4 gouttes de a, 2 fois avec 3—4 gouttes de b et terminer avec 2 gouttes d'eau pure. Il faut avoir bien soin d'essorer entre les différents lavages; en effet, l'eau dissout très peu d'urée et fait reprécipiter celle-ci de sa solution alcoolique; si on mélange dans le microbecher les deux solutions, on introduit de la dixanthylurée qui fausse les résultats.

Lorsque le lavage est terminé, on détache le filtre du tube en U, tout en le maintenant dans le microbecher et on le place avec celui-ci dans l'étuve de BENEDETTI-PICHLER. On dessèche à 105°—110° dans un faible courant d'air pendant 30 minutes. Le tube de l'étuve est alors placé à côté de la balance pendant 10 minutes, après lesquelles on retire le microbecher contenant le filtre, l'essuie avec une peau de daim et le pose sur un petit bloc de nickel placé dans la cage de la balance; au bout de 10 minutes le refroidissement est complet et on pèse au centième de milligramme. Pendant toutes ces opérations, le becher n'est manié qu'au moyen de pinces, jamais avec les doigts.

$$n \text{ mgr. } \frac{7}{7} 1000 = \text{mgr. d'urée / litre de sérum.}$$

$$n/7 = \text{mgr. trouvés en urée,}$$

$$n \cdot 7 = \text{mgr. d'urée dans 1 cc. de sérum,}$$

$$n/7 \cdot 7 \cdot 1000 = \text{mgr. d'urée par litre de sérum,}$$

de telle sorte que l'on peut simplifier l'expression et que n = grammes d'urée par litre de sérum.

Avant chaque dosage, le filtre et le becher sont lavés avec du mélange sulfochromique chaud, rincés, séchés et pesés exactement.

dans les mêmes conditions de température, durée, etc., que celles de dosage.

Cette méthode a donné les résultats suivants:

a) Dans une solution aqueuse à 0,50 gr./litre

0,48 gr./litre	0,50	0,50
----------------	------	------

b) Dans du sérum

1. 0,68 gr./litre	0,67	0,68
-------------------	------	------

2. 0,79 »	0,80	0,82
-----------	------	------

c) Dans du sérum à 0,80 gr./litre additionné de quantités variables d'une solution aqueuse d'urée à 0,50 gr./litre.

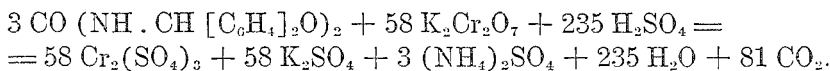
					Trouvé
1.	1 cc. sérum + 0,52 cc. sol. aq. soit	1,06 gr./litre			1,07 gr. litre
2.	1 cc. » + 0,78 cc. » » »	1,19 »			1,22 »
3.	1 cc. » + 1,20 cc. » » »	1,40 »			1,46 »
4.	0,5 cc. » + 0,50 cc. » » »	0,65 »			0,62 »

Le dosage est aussi exact et rapide que dans le procédé de NICLOUX-WELTER.

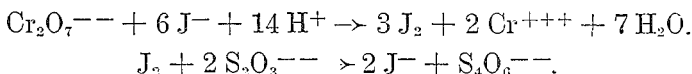
2. Dosage volumétrique

Modification du procédé ALLEN-LUCK.

Pour éviter l'emploi de la microbalance toujours délicat, nous avons remplacé l'estimation gravimétrique de la dixanthylurée par un dosage volumétrique emprunté à la méthode ALLEN-LUCK⁸. Dans ce procédé, la dixanthylurée séparée du sérum par centrifugation, est traitée par le mélange sulfochromique qui l'oxyde rapidement en acide carbonique, ammoniacque et eau suivant l'équation:



L'excès de bichromate est titré par l'hyposulfite de sodium en présence d'iodure de potassium:



1 gramme d'urée exige pour son oxydation 13,54 gr. de bichromate, 1 cc. de bichromate N/10 = 0,0518 mgr. d'urée.

Mode opératoire.

Solutions titrées et réactifs:

1. Solution à 5% de xanthidrol dans l'alcool méthylique pur.
2. Réactif de TANRET.
3. Eau et alcool éthylique à 95° saturés de dixanthylurée.
4. Acide acétique glacial pur.
5. Solution de bichromate de potassium N.
6. Solution d'hyposulfite de sodium N/10.
7. Solution d'iodure de potassium à 10%.
8. Empois d'amidon.

La défécation, la précipitation et la filtration de la dixanthylurée se font de la même manière que dans la méthode précédente. Puis le microbecher contenant le filtre de porcelaine et le précipité d'urée est placé dans une étuve ordinaire pendant 15 minutes ou 5 minutes dans l'étuve de BENEDETTI-PICHLER pour éliminer complètement l'alcool. On verse ensuite dans le becher 1 cc. exactement mesuré de la solution normale de bichromate et 1,5 cc. d'acide sulfurique concentré. On mélange en se servant du filtre comme agitateur; l'élévation de température qui se produit facilite l'oxydation, qui est complète au bout de 2 à 3 minutes. On relie de nouveau le filtre à l'appareil à filtrer et aspire la solution sulfochromique et la recueille dans un cylindre de 50 cc. grâce au dispositif décrit dans l'introduction. On lave le becher et le filtre 3 fois avec 2 cc. d'eau. On dose l'excès de bichromate directement dans le cylindre: on dilue à 20 cc. avec de l'eau distillée, on ajoute 10 cc. d'iodure de potassium à 10% et laisse couler la solution d'hyposulfite N/10; lorsque la coloration brune a presque disparu, on ajoute quelques gouttes d'amidon et on termine le titrage jusqu'à virage du bleu au vert clair.

Soit n le nombre de cc. d'hyposulfite employés.

$(10-n) 0,0518 \cdot 7 = (10-n) 0,3626 =$ Quantité d'urée en gr./litre de sérum.

Vérification de la méthode.

a) Dans une solution aqueuse d'urée à 0,5 gr./litre, le titre trouvé par la microméthode a été de:

0,502 gr./litre	0,486	0,501
-----------------	-------	-------

b) Dans du sérum dont le titre, déterminé par plusieurs dosages est de 0,38 gr./litre et additionné de quantités variables de la solution aqueuse d'urée à 0,5 gr./litre.

	Trouvé
1. 1 cc. sérum + 0,77 cc. sol. aq. soit 0,765 gr./litre	0,76 gr./litre
	0,76 »
2. 1 cc. » + 1,02 cc. » » » 0,89 »	0,90 »
	0,91 »

Remarque: On peut substituer au filtre en porcelaine, le filtre en verre avec amiante décrit plus haut; dans ce cas, il faut dessécher beaucoup plus longtemps dans l'étuve de BENEDETTI-PICHLER, au moins $\frac{1}{2}$ heure à $\frac{3}{4}$ heure, car l'amiante adsorbe fortement l'alcool de lavage.

Cette méthode qui sépare la dixanthylurée par filtration au lieu de centrifugation, est beaucoup plus rapide que le procédé d'ALLEN LUCK et les méthodes gravimétriques, tout en étant aussi exacte.

Conclusion.

Les microméthodes de dosage de l'urée sanguine, dites au xanthidrol, sont intéressantes, car elles permettent des dosages très précis sur de faibles quantités de sérum; elles présentent néanmoins plusieurs inconvénients: longue durée, matériel coûteux, etc. Les recherches faites en vue de diminuer ou de supprimer ces désavantages, ont conduit à modifier la technique des procédés NICLOUX-WELTER et ALLEN-LUCK: dans le procédé gravimétrique de NICLOUX-WELTER, le creuset de NEUBAUER en platine est remplacé par un microfiltre en porcelaine; dans le procédé volumétrique d'ALLEN-LUCK, la centrifugation du précipité est remplacée par la filtration au moyen de microfiltres.

Les deux méthodes établies, plus rapides et ne nécessitant qu'un appareillage de microanalyse très simple, sont applicables à 1 cc. de sérum et donnent des résultats précis.