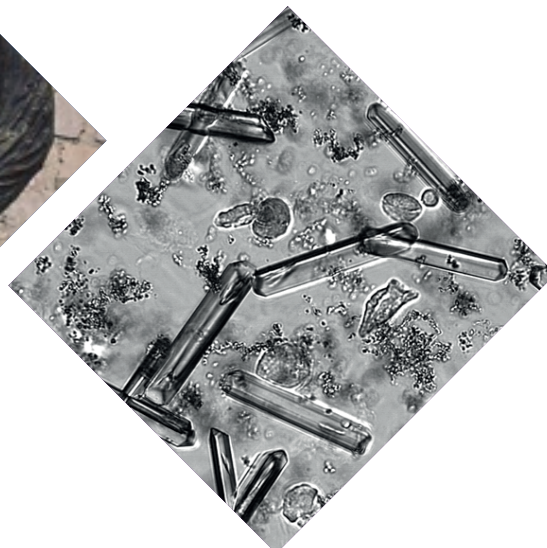


3.4

L'EXAMEN DES URINES

La banalisation de cet examen, indispensable dans la pratique du laboratoire, ou le manque de rigueur sont la source de défauts de qualité fréquents.

- 3.4 A. Analyse d'urine de routine - JP. Braun
- B. Examen du culot urinaire - C. Trumel



A. ANALYSE D'URINE DE ROUTINE

Jean Pierre Braun



OBJECTIFS

Réaliser une analyse d'urine de routine

- Aspect macroscopique
- Analyse physico-chimique par bandelette et réfractomètre
- Analyse cytologique. L'analyse cytologique des urines est envisagée dans une fiche spécifique nommée « culot urinaire ».

L'examen bactériologique n'entre pas dans l'objet de cette fiche.

ESPÈCES CONCERNÉES : CHIEN, CHAT, CHEVAL

1. MODE D'OBTENTION DES URINES

Les urines peuvent être prélevées par miction naturelle ou par cystocentèse. Lors de prélèvement d'acte thérapeutique, en cas d'obstruction urétrale, par exemple, les urines peuvent être obtenues lors du cathétérisme urétral.

2. CHOIX DU CONTENANT

Les urines doivent être placées dans un récipient ne contenant ni anticoagulant, ni activateur de coagulation, ni conservateur. Lors de miction spontanée, le recueil peut se faire dans des barquettes type alimentaire à usage unique. Lors de prélèvement par cystocentèse, les urines sont recueillies dans une seringue.

Il est ensuite recommandé de les transférer pour leur conservation ou la réalisation d'un culot urinaire dans des tubes type Eppendorf par exemple.

L'analyse sera faite dans les plus brefs délais.

3. OBSERVATION MACROSCOPIQUE (TURBIDITÉ, COULEUR)

L'examen macroscopique des urines est la première étape pour observer la couleur et la limpidité des urines. En effet, si les urines sont jaunes et limpides voire légèrement troubles, il n'est pas nécessaire de centrifuger préalablement les urines pour mesurer la densité ou analyser avec une bandelette urinaire.

Par contre, si la couleur est modifiée ou si les urines sont très troubles, une centrifugation est nécessaire et le surnageant est utilisé pour ces analyses. La centrifugation est faite à 500 g pendant 5 minutes, si la centrifugeuse le permet.

4. DENSITÉ URINAIRE (USG URINE SPECIFIC GRAVITY, EN ANGLAIS)

La densité urinaire doit être mesurée à l'aide d'un réfractomètre (cf. Fiche 2.1. C. Le réfractomètre). La bandelette urinaire ne doit jamais être utilisée pour cette évaluation.

5. UTILISATION D'UNE BANDELETTE URINAIRE

Avant toute utilisation de la bandelette urinaire, il est nécessaire de vérifier que les bandelettes ne sont pas périmées, qu'elles ont été conservées correctement (notamment dans des flacons rebouchés) et que les plages réactives ne sont pas déjà positives. Les urines doivent être à température ambiante et non à 4°C.

Le mode d'emploi des bandelettes a été prévu pour les besoins de la biologie humaine, où il est facile de recueillir un volume notable d'urine. Elles sont exclusivement manipulées par l'extrémité libre, sans toucher les plages réactives. Les bandelettes sont trempées (mais non « lavées ») brièvement dans l'urine non centrifugée et égouttées en tapotant sur le bord du flacon d'urine ou en posant la bandelette perpendiculairement sur une feuille de papier absorbant (jamais en se servant du papier absorbant comme d'un buvard).

Dans les petites espèces, le volume d'urine collecté est souvent insuffisant pour immerger une bandelette : dans ce cas, on dépose rapidement (pour pouvoir respecter ensuite les délais de lecture recommandés) une goutte sur chaque plage réactive ou on « arrose » la bandelette avec la seringue ou la pipette dans laquelle l'urine a été recueillie, et on égoutte ensuite comme précédemment.

Le développement de la réaction dans le support se traduit par l'apparition en une demie à deux minutes, en fonction des plages réactives et des marques, d'une coloration plus ou moins intense, qui est comparée à une gamme fournie par le fabricant et évaluée par un système semi-quantitatif du type : normal/négatif, +, ++, +++.

Des lecteurs automatiques peuvent effectuer une lecture des bandelettes (pour éviter le caractère subjectif de la comparaison des couleurs observées à la gamme du fabricant ou aider l'opérateur) et fournir des résultats chiffrés et imprimés.

LE 5.1. LE PH URINAIRE

Il est évalué par des bandelettes réactives à une unité près. Sa signification diagnostique est très limitée, mais il est important de le connaître car certaines autres plages de la bandelette utilisent des changements de couleur d'indicateurs de pH et peuvent donc donner des résultats erronés lorsque le pH s'écarte notablement de 7.

Il existe aussi des papiers pH spéciaux permettant une mesure par tranche de 0,3 unité mais l'utilité clinique de cette précision n'a pas été établie.

5.2. LE GLUCOSE

C'est un constituant « anormal » de l'urine, qui peut être observé, en dehors de maladies, après des repas riches en glucose (ou en glucides rapidement digérés et absorbés), lors de stress chez le chat.

Des faux positifs sont observés si la bandelette ou les urines ou le contenant des urines sont contaminés par de l'eau oxygénée, de l'eau de javel ou certains détergents.

Des faux négatifs sont observés lors de traitement du patient avec de la vitamine C, lors d'urines très concentrées, lors de forte cétonurie et bilirubinurie, lors de bactériurie, lorsque des urines conservées à 4°C n'ont pas été remises à température ambiante avant analyse.

5.3. LES CORPS CÉTONIQUES

(acétone, 3-hydroxybutyrate ou β -hydroxybutyrate, acétoacétate).

Ils sont éliminés dans l'urine en très faibles quantités, non détectées par les bandelettes. La réaction d'identification des corps cétoniques urinaires est la réaction de Legal (nitroprussiate de sodium) qui ne réagit qu'avec l'acétone et l'acétoacétate.

Des faux positifs sont observés lors d'urines très concentrées à pH acide, lors de pigmenturie.

Des faux négatifs sont observés lorsque le prélèvement est vieux.

5.4. LES PROTÉINES

Les protéines de masse moléculaire < 68000 sont filtrées par le filtre glomérulaire. Celles-ci sont réabsorbées en presque totalité dans le tubule, de telle sorte que la protéinurie est très faible chez un sujet sain (en général, $< 0,1$ à $0,5$ g/L), et en pratique indétectable par les bandelettes : de ce fait, les protéines sont considérées comme des constituants « anormaux » des urines. Il n'est cependant pas rare de détecter des protéines dans les urines concentrées.

En routine, la détection d'une protéinurie est fondée sur l'utilisation des bandelettes réactives :

- dont la limite de détection basse est environ de $0,2$ g/L,
- qui détectent mieux l'albumine que les globulines,
- qui donnent parfois des faux positifs dans les urines alcalines ($\text{pH} \geq 8$) ou lorsque le récipient est contaminé par de la chlorhexidine, des ammoniums quaternaires,
- dont les indications quantitatives sont trop imprécises dans les urines animales pour se substituer à une détermination quantitative : les indications sont tout au plus semi-quantitatives.

Il est donc essentiel de ne pas conclure après un seul dépistage positif et essentiel de confirmer le caractère permanent de la protéinurie.

Une protéinurie permanente est toujours une situation grave qui nécessite une confirmation par détermination du RPCU (rapport Protéines / Créatinine Urinaires). En outre, la quantité mesurée est à corrélérer avec le mode de recueil.

5.5. ACTIVITÉ PEROXYDASIQUE

La présence de sang ou d'hémoglobine dans l'urine est « anormale ». La détection de l'hémoglobine est fondée sur l'activité peroxydasique de l'hème. Cette réaction n'est donc pas spécifique de l'hémoglobine ou du sang : elle détecte toutes les hémoprotéines, dont la myoglobine.

Elle ne permet de conclure sans ambiguïté que dans la mesure où elle est négative. En cas de positivité, il est nécessaire de distinguer hématurie, hémoglobinurie, et myoglobinurie.

La limite de détection est très basse : $0,15$ mg d'hémoglobine libre/L ou 5 hématies/ μL .

Des faux positifs sont observés lors d'urines très concentrées à pH acide, lors de pigmenturie.

Des faux négatifs sont observés lorsque le prélèvement est vieux.

5.6. LA BILIRUBINE

C'est le catabolite de l'hème de toutes les hémoprotéines. Chez un sujet en bonne santé, la bilirubinurie est pratiquement nulle. Chez le chien, une conjugaison limitée de la bilirubine a lieu dans le rein et il est donc « normal » de trouver de faibles quantités de bilirubine dans l'urine (« traces » à « + »).

Des faux positifs sont observés lors de traitements avec des AINS, lors de présence d'indican (dérivé du tryptophane) car la détection par bandelette réactive repose sur une réaction colorée qui n'est pas spécifique de la bilirubine.
Des faux négatifs sont observés lors de traitement par la vitamine C, lors de conservation des urines à la lumière car la bilirubine est instable à la lumière.

5.7. LES LEUCOCYTES

Ils sont rares dans les urines des sujets sains. La détection des leucocytes à l'aide de bandelettes urinaires est fondée sur la mise en évidence d'une estérase des leucocytes.

Malheureusement, cette réaction présente un nombre élevé de faux positifs chez le chat et de faux négatifs chez le chien. Il ne faut pas tenir compte des résultats de cette plage réactive.

5.8. LES NITRITES

L'urine peut contenir de faibles quantités de nitrates chez les sujets qui ingèrent des végétaux. Dans la vessie d'un sujet sain, les nitrates restent stables. En revanche, lors de contamination bactérienne, certains micro-organismes (E. coli, Proteus, Klebsiella, etc.) peuvent réduire les nitrates en nitrites, à condition que l'urine ait séjourné suffisamment longtemps dans la vessie (quelques heures).

La présence de nitrites dans l'urine permet donc de conclure à une infection urinaire, mais l'absence de nitrites ne permet pas de conclure l'inverse.

5.9. L'UROBILINOGENÈ

C'est un produit de réduction de la bilirubine par la flore digestive normalement observé en faibles quantités dans l'urine des sujets en bonne santé.

Cette plage réactive n'a pas d'intérêt diagnostique en médecine vétérinaire.

6. ENREGISTREMENT DES RÉSULTATS

Les lecteurs de bandelettes sont en général couplés à des imprimantes et peuvent être reliés au système informatique de l'ESV*.

Pour toutes les observations visuelles, il est nécessaire de les noter ou de les enregistrer.

Dans tous les cas, la personne ayant fait l'analyse doit la valider.

Pour en savoir plus :

Fiche 3.4. B. Examen du culot urinaire

B. EXAMEN DU CULOT URINAIRE

Catherine Trumel



OBJECTIFS

Réaliser une analyse du culot (sédiment) urinaire :

- réalisation technique,
- lecture du culot urinaire et quantification des éléments figurés (hématies, leucocytes, cellules épithéliales, cristaux, cylindres, bactéries, spermatozoïdes).
- lecture du culot urinaire coloré pour la reconnaissance fine des cellules, des bactéries et parasites.

ESPÈCES CONCERNÉES CHIEN, CHAT.

1. RÉALISATION TECHNIQUE DU CULOT URINAIRE ENTRE LAME ET LAMELLE ET COLORÉ

- Placer 5 ml ou 1 à 1.5 ml d'urine fraîche dans un tube.
- Centrifuger 5 minutes à 450 g (1500 à 2000 tour par minute) ou en position urine en fonction de la centrifugeuse dont on dispose.
- Retirer le surnageant par retournement du tube.
- Laisser environ 0,5 ml ou 0,1 ml d'urine sur le culot (selon la quantité initiale).
- Remettre l'urine et les éléments du culot en suspension même si aucun culot n'est visible à l'œil nu délicatement sans faire de bulle.
- Placer une goutte sur une lame puis déposer une lamelle en verre sur la goutte pour étaler le culot entre lame et lamelle.
- Placer une goutte à l'extrémité d'une lame et l'étaler comme un frottis sanguin, sécher en agitant à l'air ou en séchant au sèche-cheveux sans chaleur. Il faut que le culot étalé soit parfaitement sec avant coloration.
- Colorer la lame (colorants rapides sans utiliser le flacon 1 (alcool) ou May Grunwald Giemsa -MGG) pour préparer le culot coloré.

2. LECTURE DU CULOT URINAIRE ENTRE LAME ET LAMELLE

- Abaisser le condenseur du microscope et fermer le diaphragme.
- Placer la lame préparée sur la platine du microscope.
- Mettre l'objectif x 10 et faire la mise au point :
 - ◇ Parcourir l'ensemble de l'espace délimité par la lamelle afin d'apprécier la richesse en éléments figurés, de les reconnaître et d'évaluer leur répartition.
 - ◇ Compter les cylindres sur 10 champs ; faire une moyenne et multiplier par 100 afin d'obtenir une évaluation semi-quantitative des cylindres.
- Mettre l'objectif x 40 et faire la mise au point
 - ◇ compter les éléments figurés (cellules, cristaux) sur 10 champs ; faire une moyenne et multiplier par 400 afin d'obtenir une évaluation semi-quantitative des cellules.

Le culot urinaire entre lame et lamelle chez un animal sain (chien ou chat)

- ◆ Rares hématies (< 5 / champ à l'objectif 40)
- ◆ Rares leucocytes (< 3-5 / champ à l'objectif 40)
- ◆ Quelques cellules épithéliales (< 3 / champ à l'objectif 40)
- ◆ Rares cylindres (< 1-2 / champ ; hyalins ou granuleux à l'objectif 40)
- ◆ Rares cristaux de PAM, oxalate, (bilirubine chez le chien si pas plus de 1+ à la bandelette)
- ◆ Spermatozoïdes chez le mâle entier
- ◆ Globules gras (chez le chat et les chiens stérilisés)

3. LECTURE DU CULOT COLORÉ

- Monter le condenseur du microscope jusqu'à sa position la plus haute contre la platine et ouvrir le diaphragme jusqu'à obtenir une luminosité maximale.
- Placer la lame préparée sur la platine du microscope.
- Mettre l'objectif x10 et faire la mise au point.
- Parcourir l'ensemble de la lame et identifier les éléments figurés aux objectifs x 40 et x 100.

Le culot urinaire coloré entre lame et lamelle chez un animal sain (chien ou chat)

- ◆ Rares éléments figurés (très peu de cellules et pas de bactérie)

B. EN PRATIQUE

L'EXAMEN DES URINES

Objectifs : * Permettre par utilisation d'une bandelette réactive, d'un réfractomètre, d'une centrifugeuse et d'un microscope	* l'examen biochimique des urines * la densité urinaire * la composition du sédiment urinaire
Indication : * Examen fréquent pour de nombreuses affections générales, rénales ou uro génitales	<input checked="" type="checkbox"/> Indispensable <input type="checkbox"/> Utile <input checked="" type="checkbox"/> En urgence au chevet de l'animal <input checked="" type="checkbox"/> Dans un délai rapide pour poser un diagnostic
Avantages : * Examen biochimique et densité urinaire	<input checked="" type="checkbox"/> Facile <input checked="" type="checkbox"/> Rapide <input checked="" type="checkbox"/> Disponible <input checked="" type="checkbox"/> Faible coût
Inconvénients /Contraintes : * Examen du sédiment urinaire	<input type="checkbox"/> Difficile <input checked="" type="checkbox"/> Long (réalisé par le vétérinaire) <input type="checkbox"/> Contraignante <input checked="" type="checkbox"/> Coût moyen (en temps passé...)
Apport au diagnostic : Indispensable	<input checked="" type="checkbox"/> Examen d'orientation <input type="checkbox"/> Examen de confirmation * Sensibilité : 1 2 3 4 5 (de - à +) * Spécificité : 1 2 3 4 5 (de - à +)
Contrôle qualité : Oui	<input checked="" type="checkbox"/> Technique manuelle (qualité de la réalisation technique) <input type="checkbox"/> Technique automatisée (contrôle de qualité du matériel et des résultats)
Niveau de technicité requis : Bas à moyen	* Niveau : 1 2 3 4 5 (de - à +)
Coûts des examens : Bas à modéré selon l'examen	Matériel : <input checked="" type="checkbox"/> Bas <input checked="" type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Elevé Temps passé : <input type="checkbox"/> Bas <input checked="" type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Elevé Prix des réactifs : <input checked="" type="checkbox"/> Bas <input type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Elevé
Elimination des déchets avec les DASRI :	<input checked="" type="checkbox"/> Oui - tubes, échantillons, réactifs, lames, mat. de pipetage et matériel de prélèvement <input type="checkbox"/> Non
Hygiène et sécurité : * Pour les urines infectées par des bactéries pathogènes	* Risque : 1 2 3 4 5 (de - à +)