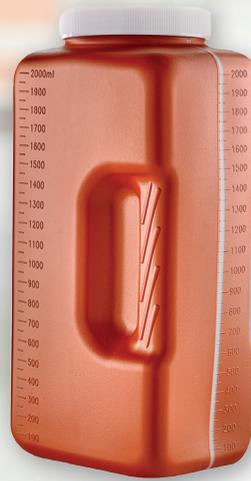


CHIMIE URINAIRE

DÉFINITION, INTÉRÊT ET ANALYSES

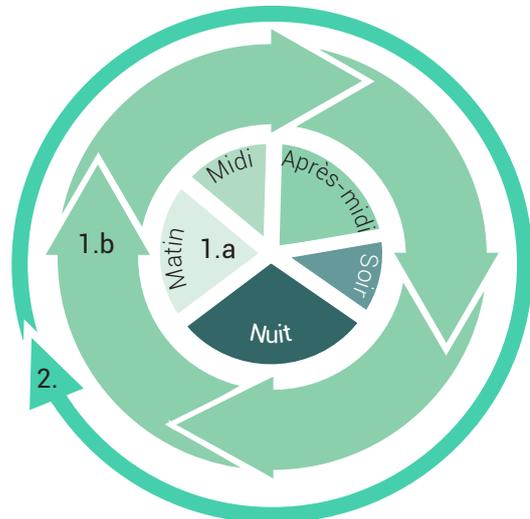


DÉFINITION

Les analyses en chimie urinaire permettent d'établir ou d'écarter le diagnostic de nombreuses maladies liées au métabolisme des glucides, aux voies urinaires, à la fonction rénale et hépatique à l'équilibre acide-base, et de nombreux autres troubles médicaux.

Il existe principalement deux grandes familles de prélèvement urinaire pour la chimie :

1. Le recueil sur échantillon :
 - 1.a soit les premières urines du matin
 - 1.b ou soit par miction au cours de la journée
2. Le recueil sur 24 heures



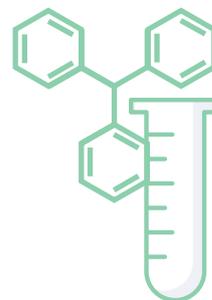
INTÉRÊT

La chimie urinaire permet le dosage de substances qui mettent en évidence des dysfonctionnements tels que :

- Le diabète par le dosage du glucose
- Une hypertension artérielle via dosage anormal d'albumine
- Le bon fonctionnement des reins par le dosage de l'urée et de la créatinine
- Une grossesse par le dosage en hormone beta HCG

Mais également :

- La recherche de drogues et de toxiques



BONNES PRATIQUES DE RECUEIL

L'étape pré-analytique est une étape clé du dosage des protéines urinaires. Elle est complexe, alliant le recueil des urines, leur conservation et leur transport jusqu'au lieu de l'analyse ainsi que la préparation des échantillons pour la ou les analyses

Elle peut donc être source de multiples erreurs, liées également au fait que le patient lui-même peut effectuer le recueil.

ABC Vol76 Num6 Isabelle Benz-de Bretagne "Gestion pré-analytique du dosage des protéines urinaires : du recueil à la préparation pour l'analyse au laboratoire"

RECUEIL DES URINES SUR 24H

- ◆ Utiliser un flacon d'urines de 24 heures (à récupérer au laboratoire ou en pharmacie)
- ◆ Au lever, vider la totalité de la vessie dans les toilettes, c'est l'heure de départ du recueil, notez-la sur le flacon
- ◆ Pendant 24 heures, recueillir la totalité des urines dans le flacon jusqu'à l'heure indiquée au départ
- ◆ Conserver les urines entre chaque miction
- ◆ Identifier le(s) flacon(s) avec le nom et prénom
- ◆ Remplir la fiche de renseignements, y noter l'heure et la date de prélèvement
- ◆ Sauf indication du laboratoire le patient conserve les urines de 24H à température ambiante entre le premier recueil et le dernier recueil



RECUEIL DES URINES POUR CHIMIE URINAIRE (ALBUMINE, GLUCOSE, IONOGRAMME, PH...), SANG, RECHERCHE DE DROGUES

- ◆ Se munir d'un flacon 60ml ou 120ml
- ◆ Se laver les mains
- ◆ Uriner dans le flacon et le refermer soigneusement
- ◆ Identifier le flacon avec nom et prénom
- ◆ Remplir la fiche de renseignements



HLM OU COMPTE D'ADDIS

- ◆ Utiliser un flacon pour Compte d'Addis (500ml)
- ◆ 3 heures avant le lever habituel : vider la totalité de la vessie dans les toilettes
- ◆ Boire un grand verre d'eau (environ ¼ de litre)
- ◆ Noter la date et l'heure sur le flacon fourni
- ◆ Se recoucher et rester allongé au repos pendant 3 heures
- ◆ 3 heures après (le plus exactement possible) : uriner dans le flacon pour recueillir la totalité des urines
- ◆ Noter l'heure sur le flacon
- ◆ Identifier le flacon avec le nom et prénom
- ◆ Remplir la fiche de renseignements



ANALYSES

Il existe 2 grands principes de dosage de la chimie urinaire :

1 Le dosage semi-quantitatif

La facilité d'accès à l'urine des patients rend tentante l'analyse directe par les praticiens des constituants urinaires, qui peuvent leur apporter des renseignements utiles, et cela rapidement et à coût restreint. C'est le cas des protéines urinaires, que l'on peut dépister grâce à l'utilisation des **bandelettes réactives**. Cependant, afin d'exploiter de façon optimale les renseignements apportés par les bandelettes urinaires, il faut prendre le temps de connaître leurs caractéristiques ainsi que les limites à leur utilisation.

ABC Vol76 Num6 Pierre Delanaye "Protéinuries et bandelettes urinaires : une technique simple d'interprétation compliquée"

2 Le dosage quantitatif

Il existe de nombreux analytes que l'on peut doser dans les urines. Le paramètre le plus connu pourrait être l'albuminurie généralement dosée pour l'analyse de la fonction rénale (bien qu'il en existe d'autres et que son interprétation n'est pas aisée).

Il existe plusieurs méthodes de dosages :

1. **Colorimétrique** : coloration d'un substrat dont la teinte est calibrée afin de déterminer la concentration
2. **L'immunoturbidimétrie et immunonéphélométrie** : globalement, ce principe de dosage repose sur la différence d'une quantité de lumière qui traverse un récipient. La quantité de lumière sera inversement proportionnelle à la concentration de l'analyte
3. **HPLC** : chromatographie en phase liquide à haute performance. Il en existe plusieurs principes mais cela permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange
4. **LC-MS/MS** : liquid chromatography-mass spectrometry
Cela reste de l'HPLC mais couplée à un spectromètre de masse. Elle devient la méthode de référence avec une amélioration significative de la limite de quantification

ACIDIFICATION DES URINES 24H

L'acidification des urines :

Il faut noter qu'il existe différentes concentrations d'acide 10N et 6N.

La concentration de l'acide doit être maîtrisée afin d'atteindre l'intervalle de pH attendu pour la méthode.

Cela pose certains problèmes pour l'accréditation de la méthode. Entre autres, le calcul du volume d'acide en fonction de sa concentration en ayant connaissance du pH de l'échantillon d'urine.

A quel moment acidifier ? Avant ou après ?

Il faut noter que l'ajout d'acide en première intention est risqué pour le patient (Projection d'acide lors du recueil et même plus si le patient ne comprend pas le protocole). Imaginez un patient qui viendrait à boire l'acide !!!

D'ailleurs, il serait nécessaire d'apposer un pictogramme sur le récipient (le règlement est la transposition du Globally Harmonized System Of Classification and Labelling Of Chemical GHS).

D'ailleurs, le volume d'acide serait dépendant du volume total des urines que le patient aura émis et du pH.

Ce sont des paramètres difficiles à maîtriser. Cela présente un risque pour le dosage car s'il y a trop d'acide au départ, il faudra tamponner (avec une base) en excès.

Certaines méthodes sont sensibles à un excès de base.

ACIDIFICATION DES URINES 24H

L'acidification permet-elle de mieux conserver les urines ?

Il existe 2 publications qui semblent démontrer qu'il n'est pas indispensable d'acidifier les urines et que la température intervient également dans la conservation.

CLIN. CHEM. 39/12, 2503-2508 (1993)

Optimal Collection and Storage Conditions for Catecholamine Measurements in Human Plasma and Urine

Frans Boomsma,¹ Gooitzen Alberts, Loes van Eijk, Arie J. Man in 't Veld, and Maarten A. D. H. Schalekamp

Improvements in methodologies for measuring concentrations of catecholamines (CA) have led to an increasing use of these compounds as markers in the screening of patients and in long-term clinical trials. Because of the associated logistical problems, we have investigated the unresolved question of optimal conditions for sample preparation and for storage of plasma and urine samples. Results show that blood should be centrifuged within 1 h after collection; the use of a refrigerated centrifuge is not necessary. Once plasma is prepared, CA are stable for 1 day at 20 °C, 2 days at 4 °C, 1 month at -20 °C (or 6 months with added glutathione), and up to 1 year at -70 °C. CA are stable at 4 °C for 1 month in unpreserved urine and for 4 months in urine preserved with EDTA and sodium metabisulfite. In acidified urine, CA were nearly unchanged after 1 year at 4 and -20 °C.

Cela étant, il faut recouper les recommandations, les bibliographies avec les fiches techniques des réactifs dédiés aux dosages (Chromatographie, HPLC etc.).

Certains réactifs nécessitent l'acidification de l'échantillon dans un intervalle de pH défini par la méthode. Cette acidification est un facteur analytique non lié à la conservation. L'acidification peut se réaliser au laboratoire (sur échantillon) afin de limiter les risques.

Par ailleurs, le WHO ainsi que W.GUDER (German United Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) indiquent une stabilité de 4 jours à température ambiante sans acidification.

Nous pouvons également voir qu'il n'est pas strictement nécessaire d'acidifier avec de l'acide chlorique (dangereux) mais aussi avec de l'EDTA.

6.2 Urine

Analyte	Stability in urine at			Stabilizer	Comments	Reference
	-20 °C	4-8 °C	20-25 °C			
Albumin	6 m	1 m	7 d			110, 148, 250, 251
Albumin	1 y	7 d	3 d			218
5(β)-Aminolevulinic acid	1 m	4 d	1 d	pH 6-7, stabilized with 0.3% NaHCO ₃	Drugs ↗ Light ↘	253, 289
Amphetamine	1 y					53
Amylase	> 3 w	> 10 d	2 d		Saliva contaminates ↗↗	161
Bence Jones protein (immunoglobulin light chains κ, λ)	6 m	1 m	7 d			250, 251
Calcium	> 3 w	4 d	2 d	Acidify, pH < 2	Crystallization at cool temperature	42
Catecholamines Norepinephrine Epinephrine Dopamine	Unstabilized 20 d Stabilized 1 y	4 d 1 y	4 d 3 w	Acidify, pH < 2.5-5 (9 ml 20% HCl in 24 h urine) or EDTA (250 mg/L) and sodium metabisulfite (250 mg/L)		26, 172, 278
Citrate	4 w*		1 d*	*pH < 1.7	Unstable in native urine	108
Cocaine metabolite Benzoylcegonine	4 m	3 w		pH 5, ascorbic acid		53, 109, 155
Codeme	1 y					53
Copper	1 y	7 d	3 d			218
Cortisol, free	1 w	1 w	2 d	10 g/L boric acid		42, 126, 276

L'acidification des urines est souvent considérée comme un moyen de conserver les catécholamines avant leur dosage. Les catécholamines sont des composés organiques synthétisés à partir de la tyrosine et jouant le rôle d'hormone ou de neurotransmetteur.

Les plus courantes sont l'adrénaline (épinéphrine), la noradrénaline (norépinéphrine) et la dopamine.

Il faut noter que les catécholamines sembleraient très instables par nature et peuvent se dégrader dans la vessie du patient.

C'est pourquoi il serait recommandé que le patient urine toutes les 3 heures. La maîtrise du protocole de recueil semble être, en lieu même, source de nombreux risques d'erreur pré-analytiques.

CONSERVATION ET TRANSPORT DES URINES

“A la fin du recueil urinaire, **il est recommandé d'acheminer l'échantillon le plus rapidement possible au laboratoire pour éviter toute dégradation liée à la présence de bactéries.** Même si les protéines sont moins sensibles que le glucose à cette action, il est recommandé de transporter l'échantillon urinaire au laboratoire dans les 2 à 4 heures suivant la fin du recueil, à température ambiante.

Dans le cas où les dosages sont différés, les protéines sont stables de 7 jours à +4°C jusqu'à 1 mois après congélation à -80°C, mais l'albumine est dénaturée après congélation à -20°C et est stable 7 jours à température ambiante ou 1 mois à +4°C”.

ABC Vol76 Num6 Isabelle Benz-de Bretagne "Gestion pré-analytique du dosage des protéines urinaires : du recueil à la préparation pour l'analyse au laboratoire"

