

Analyse au microscope du sédiment urinaire

Cyril Mousseaux - Janvier 2023

1. Généralités

L'avènement des techniques automatisées d'analyse du sédiment urinaire ont progressivement remplacés l'analyse manuelle des urines par le néphrologue.

Pourtant, les automates ne sont pas fiables pour identifier des casts de nécrose tubulaire aigue, des acanthocytes ou pour déterminer le type de cristal observé.

L'analyse du sédiment urinaire, loin d'être désuète, lorsqu'elle est intégrée au contexte clinique du patient, permet d'identifier le compartiment rénal atteint, de donner des indices sur le pronostic rénal et de guider le traitement.

2. Protocole

a. Collection des urines

Recueil des urines dans un tube sec de 5 mL

Urines fraîches avec analyse dans les deux heures suivant la collection. Jusqu'à 8 heures si stockage dans le frigo (+4°C).

Attention donc aux urines recueillies sur sonde urinaire dans lesquelles une sédimentation peut avoir lieu.

b. Examen macroscopique des urines (couleur, clarté, turbidité)

c. Bandelette urinaire

La détermination du pH urinaire au moment de l'analyse est importante car il peut influencer la morphologie des globules rouges et donne des éléments d'orientation sur le type de cristal.

d. Centrifugation

La centrifugeuse doit être équilibrée et se situe dans le poste de soins infirmiers des soins intensifs.

Centrifuger 5 mL d'urines à 2000 tour minutes pendant 10 minutes.

Retirer 4.5 mL de surnageant.

Resuspendre le culot à l'aide d'une pipette 1000

Déposer une goutte entre cellule de Malassez et lamelle.

e. Examen microscopique

Le microscope du service se situe en face de la pharmacie du poste de soins infirmiers des soins intensifs.

Il possède 4 objectifs (4x, 10x, 20x et 40x) dont seulement deux (10x et 40x) sont adaptés au contraste de phase.

L'examen doit comprendre au moins 10 champs au faible (10x) et au fort grossissement (40x).

- **Microscopie à fond clair**

C'est le microscope par défaut. Le condenseur doit être réglé sur A.

- **Microscopie à contraste de phase**

Cette technique permet de mettre en lumière les contours des membranes cellulaires et des casts. C'est particulièrement utile pour l'analyse morphologique des globules rouges.

Les objectifs 10x et 40x sont adaptés pour le contraste de phase.

Il faut régler le condenseur sur PH1 (pour le 10x) et PH2 (pour le 40x).

- **Polarisation**

L'ajout d'un filtre polarisant permet de mieux visualiser certains composants comme les cristaux et les lipides. Cette méthode permet également d'identifier les contaminations comme les textiles.

On peut activer cette option en enfonçant la tirette qui se situe au niveau des oculaires.

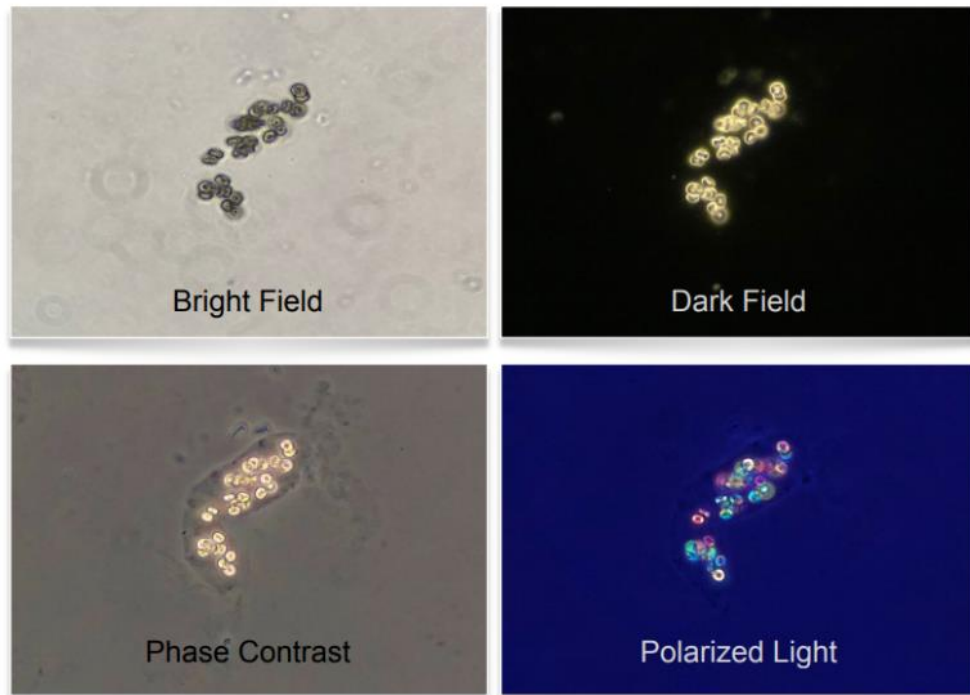


Figure 1. Les différentes techniques d'acquisition disponibles. Images issues de <https://www.renalfellow.org/2020/10/19/urine-sediment-of-the-month-transmitted-light-microscopy-techniques/>

3. Anomalies du sédiment urinaire

- Les cellules
 - Globules rouges : Petits, anucléés.
 - Globules blancs
 - Neutrophiles : Ronds, granulés, polylobés
 - Eosinophiles : Noyau bilobé avec des granules dans le cytoplasme
 - Lymphocytes : Difficiles à identifier. De plus petite taille avec un noyau occupant la quasi-totalité du cytoplasme.
 - Cellules tubulaires : Elles sont ovoïdes ou rondes et ont un noyau large au centre du cytoplasme.
- Les casts : Ce sont des éléments cylindriques formés dans le tubule distal. Ils peuvent être acellulaires (avec un contenu granulaire ou alors « waxy » plutôt transparent au fond clair) ou cellulaires (globules rouges, leucocytes, cellules tubulaires).
- Les cristaux : Les cristaux sont le reflet d'une hypersaturation d'un métabolite ou d'un médicament. Ils apparaissent bi-réfringents à la lumière polarisée.

4. Pertinence clinique des anomalies

a. Insuffisance rénale aiguë

L'analyse du sédiment urinaire peut être utile pour distinguer une insuffisance rénale aiguë fonctionnelle d'une nécrose tubulaire aiguë ischémique.

L'insuffisance rénale aiguë fonctionnelle se caractérise surtout par un sédiment urinaire pauvre et la présence de casts hyalins.

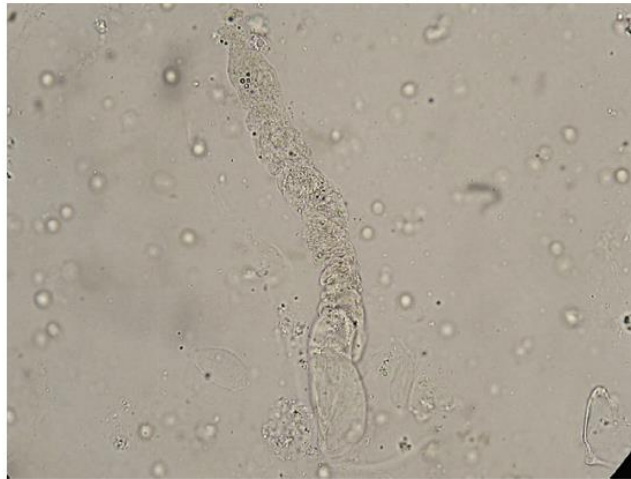


Figure 2 Cast hyalin au cours d'une insuffisance rénale aiguë fonctionnelle Image issue de Urine Sediment Examination in the Diagnosis and Management of Kidney Disease: Core Curriculum 2019

Deux anomalies particulières évoquent la **nécrose tubulaire aiguë** :

- **Les cellules tubulaires épithéliales**

Leur présence reflète leur détachement du fait d'une ischémie ou toxique. Ils sont plutôt difficiles à identifier car leur aspect est varié (rond, ovale, en forme de colonne ou polygonal). Ils sont à peu près deux fois plus gros que les globules rouges. Plus l'agression tubulaire est sévère, plus il y a des RTECs.

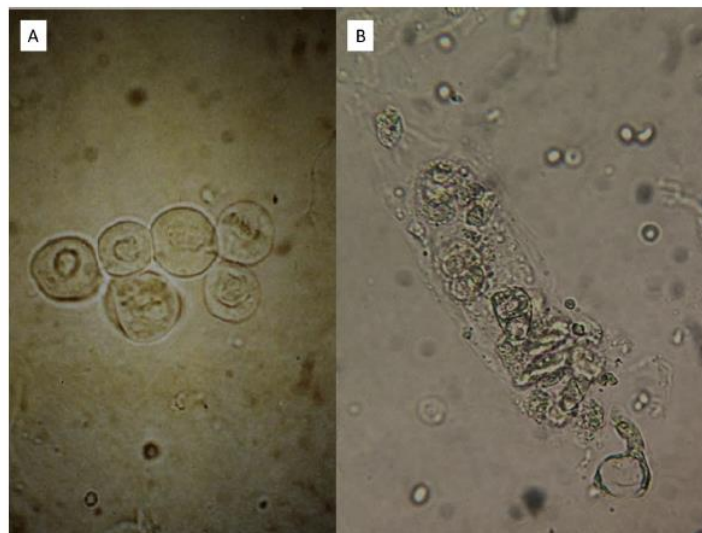


Figure 3 A) Cellules tubulaires 2) Casts de cellules tubulaires. Image issue de Urine Sediment Examination in the Diagnosis and Management of Kidney Disease: Core Curriculum 2019

- **Les casts granulaires**

Ce type de « casts » ou de précipitats correspond à des débris de cellules tubulaires qui prennent la forme de la lumière tubulaire (matrice d'uromoduline associée à des protéines plasmatiques).

Ces casts sont associés au diagnostic de nécrose tubulaire et au recours à l'épuration extra-rénale si ils sont foncés (« muddy brown cast ») (Figure C et D).

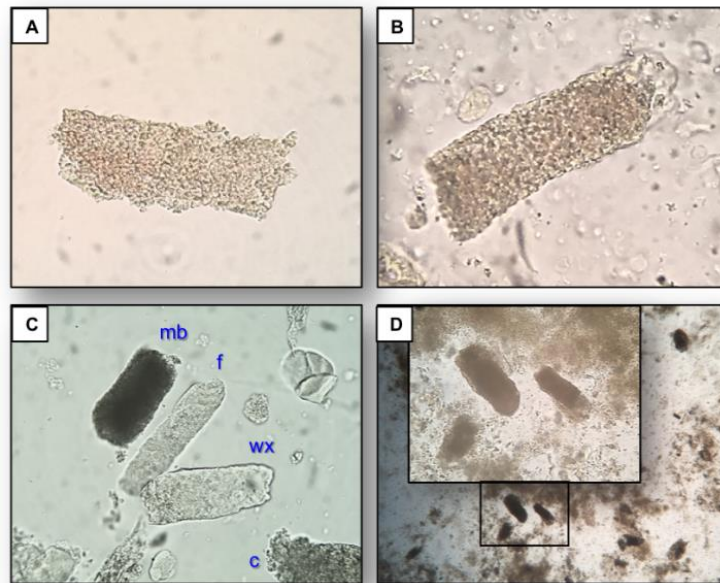


Figure 4. A et B. Casts granulaires. C. Association de casts granulaires (mb, c et f) et d'un cast hyalin . D. Casts granulaires boueux (muddy brown casts) Images issues de <https://www.renalfellow.org/2019/04/30/urine-sediment-of-the-month-granular-muddy-brown-casts/>

b. Syndrome néphritique et glomérulonéphrite

- Globules rouges dysmorphiques

L'acanthocytose est la principale anomalie morphologique observée en cas d'hématurie d'origine glomérulaire. L'utilisation du contraste de phase est indispensable pour les observer.

- Casts de globules rouges

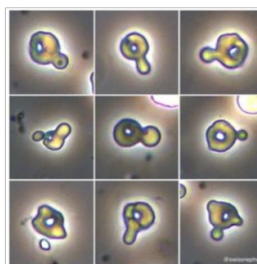
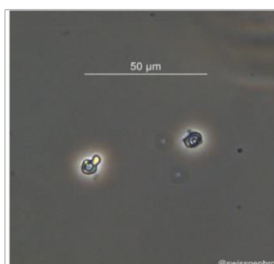
Ces casts sont très spécifiques d'une agression glomérulaire mais rare et difficile à observer.

- Casts de globules blancs et leucocyturie

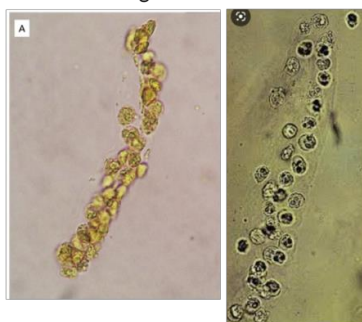
Leur présence combinée à la présence de globules rouges dysmorphiques orientent vers une glomérulonéphrite proliférative.

Très difficiles à distinguer des casts de cellules tubulaires, ils sont également présents dans les néphrites interstitielles aiguës.

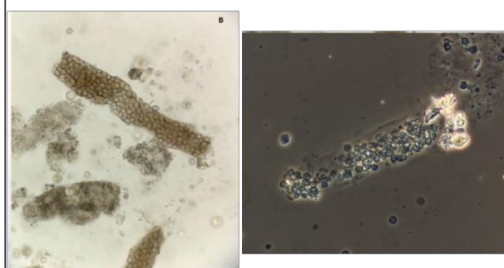
Acanthocytes



Casts de globule blanc



Casts de globule rouge



c. Syndrome néphrotique

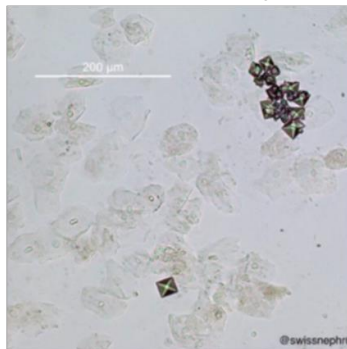
Le sédiment urinaire est en général acellulaire et retrouve des casts lipidiques. Ces casts lipidiques contiennent notamment du cholestérol qui est biréfringent à la lumière polarisée avec un aspect typique de croix de Malte.



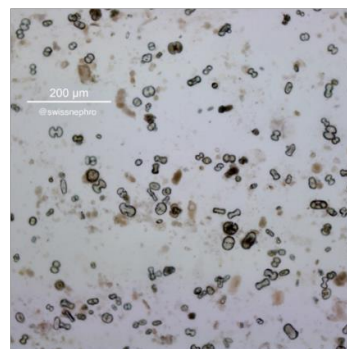
d. Cristallurie

La mise en évidence de certains types de cristaux n'est pas forcément en lien avec le mécanisme de l'insuffisance rénale (eg. Cristaux d'acide urique ou d'oxalate de calcium)

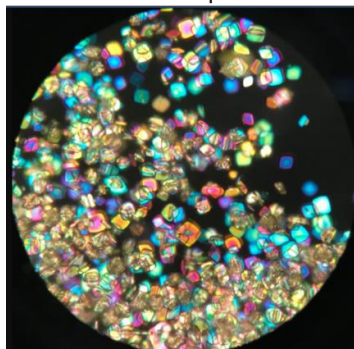
Oxalate de calcium dihydraté



Oxalate de calcium monohydraté



Acide urique



Struvite



Les quatre principaux types de cristaux sont présentés ci-dessus avec le détail des descriptions dans le tableau ci-dessous.

Table 2. Description of Common Urine Crystals

	Morphology	pH Range	Birefringence
Endogenous			
Calcium oxalate	Monohydrated: colorless ovoid, dumbbells, rods Dihydrated: colorless bipyramidal	5.4-6.7 5.4-6.7	Strong (mono) Weak (di)
Calcium phosphate	Prisms, sticks, needles, stars, rosettes in isolation or in aggregates	6.7-7.0	Strong
Triple phosphate	Trapezoids, prisms, feather-like, "coffin lids"	6.2-7.0	Strong
Uric acid	Amber with variety of shapes: rhomboids, barrels, rosettes, needles, 6-sided plates	5.4-5.8	Strong polychromatic
Cystine	Colorless hexagonal plates with irregular sides	5.5	Weak
Leucine	Yellow-brown spheres with concentric striations	5.5-6.5	Maltese cross
2,8-Dihydroxyadenine	Reddish-brown round with central spicules and dark outline	5.5-7.0	Maltese cross
Tyrosine	Colorless to yellow thin needles in bundles or rosettes	5.5-6.5	Strong
Cholesterol	Thin plates with well-defined edges	5.5	Negative
Ammonium biurate	Yellow-brown spheres with spicules, thorn apples	5.5-7.0	Strong
Calcium carbonate	Dumbbells, thick rods, 4-leaf clover	7.0	Strong
Bilirubin crystals	Yellow needle-like crystals, attach to cell surfaces	5.5	Weak
Drug-Related			
Sulfadiazine	Amber as shocks or sheaves of wheat, shells	5.5	Strong
Acyclovir	Thin needles with sharp or blunt ends	5.5-7.0	Strong
Atazanavir	Thin needles in isolation or as aggregates	6.0-7.0	Strong
Methotrexate	Yellow-brown	5.4-6.0	Strong
Vitamin C (calcium oxalate)	Same as for monohydrated calcium oxalate	5.4-6.7	Strong
Triamterene	Brown and other colors (green/orange/red); spheres	5.5	Maltese cross
Ciprofloxacin	Colorless needles, stars, fans, sheaves	>7.0	Strong
Amoxicillin	Colorless thin needles, broom/brush-like	5.5-6.5	Strong

5. Références

Cavanaugh, C., Perazella MA. (2019). Urine Sediment Examination in the Diagnosis and Management of Kidney Disease: Core Curriculum 2019. AKJKD

<https://www.renalfellow.org/category/urine-sediment-of-the-month/>