



**HAL**  
open science

# Etude visant à évaluer les modifications du RPCU, de la cytologie et de la bactériologie dans les urines des chiens prélevées par miction spontanée après réfrigération

Eve Dauriac

## ► To cite this version:

Eve Dauriac. Etude visant à évaluer les modifications du RPCU, de la cytologie et de la bactériologie dans les urines des chiens prélevées par miction spontanée après réfrigération. Médecine vétérinaire et santé animale. 2017. dumas-04542041

**HAL Id: dumas-04542041**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04542041v1>**

Submitted on 11 Apr 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## Open Archive Toulouse Archive Ouverte

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/19687>

**To cite this version:**

Dauriac, Eve. *Etude visant à évaluer les modifications du RPCU, de la cytologie et de la bactériologie dans les urines des chiens prélevées par miction spontanée après réfrigération*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2017, 116 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: [tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr](mailto:tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr)

# ETUDE VISANT A EVALUER LES MODIFICATIONS DU RPCU, DE LA CYTOLOGIE ET DE LA BACTERIOLOGIE DANS LES URINES DE CHIENS PRELEVEES PAR MICTION SPONTANEE APRES REFRIGERATION

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**DAURIAC, Eve**

Née, le 06/02/1992 à TALENCE (33)

---

**Directeur de thèse : Mme Rachel LAVOUE**

---

## JURY

PRESIDENT :

**Mme Monique COURTADE SAÏDI**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

**Mme Rachel LAVOUE**

**Mme Catherine TRUMEL**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



**Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation  
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

**Directrice** : **Madame Isabelle CHMITELIN**

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MILON Alain**, *Microbiologie moléculaire*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1° CLASSE**

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

**PROFESSEURS 2° CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*

## PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*  
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

## MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

## MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*  
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*  
Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*  
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*  
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*  
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*  
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*  
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*  
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*  
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*  
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*  
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*  
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*  
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

## ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*  
M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*  
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*  
Mme **SABY-CHABAN Claire**, *Gestion de la santé des troupeaux bovins*

## **REMERCIEMENTS AU JURY**

A Madame le Professeur Monique COURTADE-SAÏDI, Présidente du jury.

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse, hommages respectueux.

A Madame le Docteur Rachel LAVOUE Directrice de Thèse.

Maître de Conférences en médecine interne à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Pour sa disponibilité, ses précieux conseils, son investissement et son attention à la correction de ma thèse.

Qu'elle trouve ici le témoignage de ma gratitude et de mon profond respect.

A Madame le Professeur Catherine TRUMEL, Assesseur.

Professeur de Biologie médicale à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Pour avoir accepté d'être assesseur de ma thèse.

Pour son aide dans le choix d'un sujet enrichissant et original.

Sincère reconnaissance.





# TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	3
TABLE DES ANNEXES.....	8
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	9
INTRODUCTION.....	11
PREMIERE PARTIE : LES FACTEURS PRE-ANALYTIQUES INTERVENANT DANS L'ANALYSE D'URINE .....	17
<b>1. Le statut de l'animal au moment du prélèvement.....</b>	<b>17</b>
<b>1.1. L'influence de l'heure du prélèvement.....</b>	<b>17</b>
1.1.1. Protéinurie et RPCU .....	17
1.1.2. Densité et osmolarité urinaire .....	19
<b>1.2. L'influence de l'alimentation.....</b>	<b>20</b>
1.2.1. pH urinaire .....	20
1.2.2. Cristaux urinaires.....	22
1.2.3. Protéinurie et RPCU .....	22
1.2.4. Densité urinaire.....	23
<b>1.3. L'influence de l'état de santé de l'animal .....</b>	<b>23</b>
1.3.1. Protéinurie et RPCU .....	23
1.3.2. Densité et osmolarité urinaire.....	26
1.3.3. Albumine,retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) urinaires 26	
<b>1.4. L'influence du stress .....</b>	<b>27</b>
<b>2. L'influence du mode de prélèvement sur les résultats .....</b>	<b>28</b>
<b>2.1. Bactériurie .....</b>	<b>29</b>
<b>2.2. Hématurie .....</b>	<b>30</b>
<b>2.3. Protéinurie et RPCU.....</b>	<b>31</b>
<b>2.4. Albumine, retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl-β-D-glucosaminidase urinaires ...</b>	<b>31</b>
<b>3. L'influence de la méthode de conservation du spécimen.....</b>	<b>31</b>
<b>3.1. Délai d'analyse .....</b>	<b>31</b>
3.1.1. Protéinurie et RPCU .....	31
3.1.2. Bactériurie.....	32
3.1.3. Cristallurie .....	33

3.1.4.	<i>Densité urinaire</i> .....	33
3.1.5.	<i>Albumine, retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl-β-D-glucosaminidase urinaires</i>	33
<b>3.2.</b>	<b><i>Température de conservation</i></b> .....	<b>34</b>
3.2.1.	<i>Protéinurie et RPCU</i> .....	34
3.2.2.	<i>Albumine, retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl-β-D-glucosaminidase urinaires</i>	34
3.2.3.	<i>Bactériurie</i> .....	36
3.2.4.	<i>Cristallurie</i> .....	36
<b>3.3.</b>	<b><i>Ajout d'un conservateur</i></b> .....	<b>37</b>
DEUXIEME PARTIE : ETUDE VISANT A EVALUER LES MODIFICATIONS DU RPCU, DE LA CYTOLOGIE ET DE LA BACTERIOLOGIE DANS LES URINES DE CHIENS PRELEVEES PAR MICTION SPONTANEE APRES REFRIGERATION.....		40
<b>1.</b>	<b>Matériel et méthode</b> .....	<b>40</b>
<b>1.1.</b>	<b><i>Protocole expérimental</i></b> .....	<b>40</b>
1.1.1.	<i>Animaux utilisés</i> .....	40
1.1.1.1.	<i>Critères d'inclusion</i> .....	40
1.1.1.2.	<i>Critère d'exclusion</i> .....	40
1.1.1.3.	<i>Préparation des chiens sélectionnés</i> .....	41
1.1.1.4.	<i>Prélèvement d'urine</i> .....	41
1.1.2.	<i>Etapes pré-analytiques</i> .....	42
1.1.2.1.	<i>Préparation des urines</i> .....	42
1.1.2.2.	<i>Délai et conservation entre la collecte et l'analyse</i> .....	42
1.1.2.3.	<i>Centrifugation</i> .....	43
1.1.2.4.	<i>Extraction du surnageant et préparation des spécimens liquides</i> .....	43
1.1.2.5.	<i>Remise en suspension du sédiment</i> .....	43
1.1.3.	<i>Etapes analytiques</i> .....	44
1.1.3.1.	<i>Bandelette urinaire</i> .....	44
1.1.3.2.	<i>Densité urinaire</i> .....	44
1.1.3.3.	<i>Examen cytologique du sédiment</i> .....	44
1.1.3.3.1.	<i>Analyse préliminaire au faible grossissement</i> .....	44
1.1.3.3.2.	<i>Analyse au fort grossissement</i> .....	45
1.1.3.3.3.	<i>Bactériologie</i> .....	46

1.1.3.4.	<i>RPCU</i> .....	46
1.1.4.	<i>Contrôle qualité</i> .....	46
1.2.	<i>Schéma récapitulatif</i> .....	47
1.3.	<i>Analyses statistiques</i> .....	47
<b>2.</b>	<b>Résultats</b> .....	<b>48</b>
2.1.	<i>Population</i> .....	48
2.1.1.	<i>Chiens inclus dans l'étude</i> .....	48
2.1.1.1.	<i>Age des chiens inclus dans l'étude</i> .....	48
2.1.1.2.	<i>Sexe des chiens inclus dans l'étude</i> .....	49
2.1.1.3.	<i>Gabarit des chiens inclus dans l'étude</i> .....	49
2.1.1.4.	<i>Affection des chiens inclus dans l'étude</i> .....	50
2.1.2.	<i>Chiens exclus de l'étude</i> .....	52
2.2.	<i>Résultats de l'analyse d'urine</i> .....	53
2.2.1.	<i>Résultats de l'analyse d'urine à T0</i> .....	53
2.2.1.1.	<i>Densité urinaire</i> .....	53
2.2.1.2.	<i>Bandelette</i> .....	54
2.2.1.2.1.	<i>pH</i> .....	54
2.2.1.2.2.	<i>Glucose</i> .....	54
2.2.1.2.3.	<i>Bilirubine</i> .....	54
2.2.1.2.4.	<i>Corps cétoniques</i> .....	54
2.2.1.2.5.	<i>Sang</i> .....	54
2.2.1.2.6.	<i>Protéine</i> .....	55
2.2.1.2.7.	<i>Urobilirubine</i> .....	55
2.2.1.2.8.	<i>Nitrite</i> .....	55
2.2.1.2.9.	<i>Leucocytes</i> .....	55
2.2.1.3.	<i>Créatininurie / Protéinurie / RPCU / Stade IRIS</i> .....	55
2.2.1.4.	<i>Cytologie urinaire</i> .....	56
2.2.1.5.	<i>Croissance bactérienne</i> .....	57
2.2.1.5.1.	<i>Culture bactérienne</i> .....	58
2.2.1.5.2.	<i>Infection bactérienne</i> .....	59
2.2.1.6.	<i>Délai entre collecte d'urine et analyse cytologique</i> .....	59

2.2.2.	<i>Résultats de l'analyse d'urine à T4</i> .....	60
2.2.2.1.	<i>Créatininurie / Protéinurie / RPCU / Stade IRIS</i> .....	60
2.2.2.2.	<i>Cytologie urinaire</i> .....	61
2.2.3.	<i>Résultats de l'analyse d'urine à T24</i> .....	62
2.2.3.1.	<i>Créatininurie / Protéinurie / RPCU / Stade IRIS</i> .....	62
2.2.3.2.	<i>Cytologie urinaire</i> .....	62
2.2.3.3.	<i>Culture bactérienne</i> .....	63
2.2.3.3.1.	<i>Croissance bactérienne</i> .....	63
2.2.3.3.2.	<i>Infection bactérienne</i> .....	65
<b>2.3.</b>	<b><i>Influence démographique sur l'analyse d'urine</i></b> .....	<b>65</b>
2.3.1.	<i>RPCU</i> .....	66
2.3.2.	<i>Densité urinaire</i> .....	66
2.3.3.	<i>Cytologie urinaire</i> .....	66
2.3.3.1.	<i>Cristallurie</i> .....	66
2.3.3.2.	<i>Hématurie</i> .....	67
2.3.3.3.	<i>Pyurie</i> .....	67
2.3.3.4.	<i>Cylindrurie</i> .....	67
2.3.3.5.	<i>Bactériurie</i> .....	67
2.3.3.6.	<i>Présence de cellules épithéliales</i> .....	68
2.3.4.	<i>Bandelette urinaire</i> .....	69
2.3.4.1.	<i>pH</i> .....	69
2.3.4.2.	<i>Glucose</i> .....	69
2.3.4.3.	<i>Bilirubine</i> .....	69
2.3.4.4.	<i>Sang</i> .....	69
2.3.4.5.	<i>Protéine</i> .....	70
2.3.4.6.	<i>Leucocyte</i> .....	70
2.3.5.	<i>Bactériologie urinaire</i> .....	70
<b>2.4.</b>	<b><i>Influence du temps d'analyse</i></b> .....	<b>71</b>
2.4.1.	<i>RPCU et Stade IRIS</i> .....	71
2.4.2.	<i>Cytologie urinaire</i> .....	72
2.4.2.1.	<i>Cristallurie</i> .....	72

2.4.2.2.	<i>Hématurie</i> .....	73
2.4.2.3.	<i>Pyurie</i> .....	73
2.4.2.4.	<i>Cylindrurie</i> .....	73
2.4.2.5.	<i>Bactériurie</i> .....	73
2.4.2.6.	<i>Spermaturie</i> .....	73
2.4.2.7.	<i>Présence de cellules épithéliales à la cytologie</i> .....	74
2.4.3.	<i>Bactériologie urinaire</i> .....	74
<b>3.</b>	<b>Discussion</b> .....	<b>76</b>
3.1.	<i>Influence des paramètres démographiques sur l'analyse d'urine</i> .....	76
3.1.1.	<i>RPCU et stade IRIS</i> .....	76
3.1.2.	<i>Cytologie urinaire</i> .....	76
3.1.3.	<i>Bandelette urinaire</i> .....	77
3.1.4.	<i>Bactériologie urinaire</i> .....	77
3.2.	<i>Influence du temps de stockage sur l'analyse d'urine</i> .....	78
3.2.1.	<i>RPCU et stade IRIS</i> .....	78
3.2.2.	<i>Cytologie urinaire</i> .....	78
3.2.3.	<i>Bactériologie urinaire</i> .....	79
CONCLUSION .....		81
BIBLIOGRAPHIE .....		83
ANNEXES .....		89

## TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Consentement éclairé.....	89
Annexe 2 : Fiche d'identification de l'animal.....	90
Annexe 3 : Fiche de résultats d'analyse.....	93
Annexe 4 : Ordonnance de bactériologie.....	99
Annexe 5 : Données statistiques pour l'évaluation des cristaux de struvite.....	100
Annexe 6 : Données statistiques pour l'évaluation des calculs d'oxalate de calcium.....	100
Annexe 7 : Données statistiques pour l'évaluation de la plage glucose à la bandelette urinaire.....	102
Annexe 8 : Données statistiques pour l'évaluation de la plage bilirubine à la bandelette urinaire.....	104
Annexe 9 : Données statistiques pour l'évaluation de la plage sang à la bandelette urinaire.....	106
Annexe 10 : Données statistiques pour l'évaluation de la plage protéine à la bandelette urinaire.....	110
Annexe 11 : Données statistiques pour l'évaluation de la plage leucocyte à la bandelette urinaire.....	113
Annexe 12 : Données statistiques des résultats de bactériologie urinaire.....	115

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Effet de la prise de nourriture sur le pH urinaire post prandial de chats adultes .....	20
Figure 2 : RPCU moyen de 9 chiens traités avec de la prednisolone PO.....	24
Figure 3 : Effet de la contamination par du sang d'urines sur le RPCU de chiens.....	24
Figure 4 : Schéma récapitulatif de l'expérience .....	47
Figure 5 : Répartition des âges des chiens étudiés .....	48
Figure 6 : Répartition des sexes des chiens étudiés .....	49
Figure 7 : Répartition des gabarits des chiens étudiés.....	50
Figure 8 : Répartition de la moyenne des bactéries isolées à la cytologie urinaire en fonction du gabarit .....	68
Figure 9 : Répartition du RPCU en fonction du temps d'analyse.....	71
Figure 10 : Répartition des moyennes de cristaux observés en fonction du temps d'analyse ..	72
Tableau 1 : Tableau d'interprétation de deux valeurs successives de RPCU .....	18
Tableau 2 : Effet de la cystotomie et de la cystite infectieuse expérimentale sur le RPCU ....	25
Tableau 3 : Tableau récapitulatif des résultats de cytologie .....	45
Tableau 4 : Répartition des troubles uro -génitaux des animaux atteints.....	51
Tableau 5 : Répartition des troubles non uro-génitaux des animaux malades .....	52
Tableau 6 : Répartition des résultats de densité urinaire à T0.....	53
Tableau 7 : Répartition des résultats de la protéinurie, de la créatininurie et du RPCU à T0.	55
Tableau 8 : Répartition des résultats de la protéinurie, de la créatininurie et du RPCU à T0 en fonction du stade IRIS .....	56
Tableau 9 : Répartition des résultats de la cytologie urinaire à T0 .....	57
Tableau 10 : Répartition du comptage bactériologique ainsi que des souches isolées à T0 ....	58
Tableau 11 : Répartition des comptages bactériologiques et des souches bactériennes isolées lors d'infection du tractus urinaire à T0 .....	59
Tableau 12 : Répartition des résultats de protéinurie, créatininurie et RPCU à T4 .....	60
Tableau 13 : Répartition des résultats de protéinurie, créatininurie et RPCU à T4 en fonction du stade IRIS .....	60
Tableau 14 : Répartition des résultats de cytologie à T4 .....	61
Tableau 15 : Répartition des résultats de protéinurie, créatininurie et RPCU à T24 .....	62
Tableau 16 : Répartition des résultats de cytologie à T24 .....	63
Tableau 17: Répartition du comptage bactériologique ainsi que des souches isolées à T24 ...	64
Tableau 18 : Répartition des comptages bactériologiques et des souches bactériennes isolées lors d'infection du tractus urinaire à T24 .....	65
Tableau 19 : Evolution des bactériologies urinaires des animaux diagnostiqués comme atteints d'une ITU à T0 .....	75





## INTRODUCTION

L'analyse d'urine est aujourd'hui un examen complémentaire très souvent effectué en médecine vétérinaire et particulièrement en médecine canine et féline. Celle-ci permet d'objectiver et de diagnostiquer un grand nombre d'affections et de maladies qui sont fréquemment rencontrées.

L'analyse urinaire de routine comporte différentes étapes qui permettent d'évaluer différentes caractéristiques physiques et chimiques de l'urine (Rabinovitch, 2009).

Tout d'abord, un examen macroscopique est nécessaire, permettant la description de la couleur, de l'odeur et de la turbidité des urines.

Ensuite une analyse physico-chimique instrumentale est réalisée.

La détermination de la densité urinaire à l'aide d'un réfractomètre reflète la concentration totale des solutés dans les urines et traduit la capacité ou non des reins à concentrer l'urine. La réalisation d'une bandelette urinaire est l'une des étapes clés de l'analyse. Elle consiste en un test colorimétrique qui permet de déterminer de façon semi quantitative la présence ou l'absence de certaines entités chimiques. Les bandelettes urinaires permettent de mettre en évidence la présence pathologique de protéines, de leucocytes, de glucose, de corps cétonique, de bilirubine, de sang, d'urobilirubine et de nitrites dans les urines. Elles permettent également de mesurer le pH urinaire.

Enfin l'examen cytologique du sédiment urinaire permet de mettre en évidence un processus inflammatoire ou infectieux, une cristallurie, une hématurie, la présence de cellules épithéliales, de cylindres.

D'autres tests peuvent être également effectués comme par exemple la réalisation du Rapport Protéine Créatinine Urinaire (RPCU) qui permet de quantifier une protéinurie ou encore le dosage de certaines protéines ou activités enzymatiques afin de déterminer la localisation d'une lésion rénale.

Cette analyse complète des urines présente un réel intérêt diagnostique et pronostic pour de nombreuses affections. Dans un contexte de maladie rénale chronique, l'analyse des urines permet à la fois d'établir un diagnostic, de déterminer le stade d'évolution de la maladie, d'évaluer le pronostic mais également de décider de la mise en place d'un traitement et de déterminer son efficacité (IRIS Canine GN Study Group Diagnosis Subgroup et al. 2013). Le dosage précoce et précis de la protéinurie en particulier, est important dans le cas de maladie rénale chronique car elle est signe de morbidité et de mortalité chez le chien et le chat (Jacob

et al. 2005). Une protéinurie élevée sera signe de l'évolution de la maladie et sera de pronostic défavorable. De même, lorsqu'un animal est sous traitement, étudier l'évolution de sa protéinurie permet de vérifier l'efficacité du traitement et de l'ajuster si celle-ci est trop élevée (IRIS Canine GN Study Group Diagnosis Subgroup et al. 2013).

Les urines provenant d'un chien en bonne santé avec des reins sains contiennent peu de protéines. Cette très faible quantité de protéine n'est en général pas détectée par les techniques semi-quantitatives de mesure de protéines urinaires. Lors de protéinurie anormale, différentes techniques permettent de dépister la présence de protéine tels que la bandelette urinaire (test semi quantitatif), le Rapport Protéine Créatinine Urinaire (RPCU, test quantitatif) et le dosage de certaines protéines urinaires tels que l'albumine (Lees et al. 2005). Le test de première intention réalisé dans la majorité des cas est la bandelette urinaire. Il faut toutefois garder à l'esprit que la spécificité et la sensibilité de la bandelette urinaire pour les protéines ne sont pas très bonnes et que celle-ci risque de donner un faux positif si les urines sont trop concentrées ou trop alcalines (Lees et al. 2005) ou un faux négatif si les urines sont trop diluées ou acides (DiBartola et al. 1980). En cas de positivité à la bandelette, c'est-à-dire une bandelette donnant un résultat supérieur ou égal à 2 + de protéines, un RPCU est préconisé pour confirmer la présence d'une protéinurie pathologique et la quantifier (Zatelli et al. 2010).

Le RPCU est une méthode fiable qui permet d'avoir la plus proche estimation des protéines excrétées dans les urines pendant 24 heures. En effet, cette excrétion varie le long de la journée, entraînant une concentration protéique urinaire variable en fonction de l'heure de collecte. La récolte des urines sur 24 heures est donc nécessaire afin d'avoir une valeur interprétable de la protéinurie mais, non réalisable en pratique vétérinaire. Le RPCU permet de s'affranchir de cette collecte sur 24 heures et est représentatif de la valeur moyenne de la protéinurie quotidienne (Price, Newall, et Boyd 2005).

Le RPCU est considéré, chez le chien, comme physiologique lorsqu'il est inférieur à 0,2, douteux entre 0,2 et 0,5, et anormal au-delà de 0,5 (Lees et al. 2005).

Il convient toutefois d'identifier l'origine de cette protéinurie. En effet celle-ci peut être :

- Pré-rénale : elle est due à une concentration en protéines plasmatiques trop importante ; ces protéines traversent les capillaires glomérulaires et se retrouvent dans les urines.
- Rénale : elle est due à un dysfonctionnement dans la prise en charge des protéines par le rein ; elle peut être fonctionnelle c'est-à-dire provenir d'une altération physiologique rénale due à des phénomènes transitoires tels que l'exercice ou la fièvre, ou encore pathologique, c'est-à-dire provenir de lésions rénales qui empêchent la bonne filtration des urines.

- Post rénale : elle est due à l'entrée de protéines dans les urines après le rein. Elle peut être due à une anomalie du bas appareil urinaire ou de l'appareil génital (DiBartola et al., 1980)

Afin de différencier l'origine d'une protéinurie, une démarche rigoureuse est nécessaire :

- Il faut tout d'abord prélever les urines par cystocentèse c'est-à-dire par ponction directement dans la vessie pour éliminer les causes post rénales extra urinaires
- Un dosage des protéines totales permet d'exclure une cause pré-rénale
- Un culot urinaire permet de détecter tout signe d'inflammation ou d'hématurie ce qui écarte les causes post-rénales urinaires (Lees et al. 2005).

De même, l'analyse cytologique du sédiment et la bactériologie urinaire, permettent d'établir un diagnostic, d'évaluer le pronostic, de décider de la mise en place d'un traitement et de déterminer son efficacité sur des affections telles que des infections du tractus urinaire ou des lithiases urinaires.

En effet, la mise en évidence d'une cristallurie aide à l'identification de processus pathologiques qui prédisposent à la formation d'urolithiases et permet de déterminer l'efficacité des protocoles médicaux prescrits afin de dissoudre ou de prévenir ces urolithiases (Albasan et al. 2003).

Chez le chien, deux types de cristaux sont majoritairement isolés, les oxalates de calcium et les cristaux de struvites aussi appelés phosphate-ammoniac-magnésien (PAM). Ces cristaux se forment dans des conditions de pH différentes, les struvites se formant plus à des pH alcalins et les oxalates de calcium à des pH acides. Cette cristallurie est souvent associée à une infection microbienne du bas appareil urinaire, il est donc important de prêter une attention particulière à la bactériurie lorsque des cristaux sont mis en évidence.

Il faut toutefois prendre garde à l'identification de ces cristaux lors d'analyses du culot urinaire car dans certaines conditions de stockage, des néo cristaux formés in vitro et non présents dans les urines in vivo peuvent se former et fausser le diagnostic (Albasan et al. 2003). Ainsi certains recommandent l'analyse directe des urines dans l'heure suivant le prélèvement, sous peine d'avoir des artéfacts non observés in vivo (Albasan et al. 2003).

Une infection du tractus urinaire est diagnostiquée par la mise en évidence de bactéries dans les urines. Aujourd'hui 14 % des chiens ont ou auront un jour une infection du tractus urinaire ; les femelles étant plus sensibles que les mâles (Rowlands et al. 2011).

Sur un chien sain, le vagin, le prépuce et l'extrémité distale de l'urètre sont colonisés par des bactéries potentiellement pathogènes, qui peuvent être retrouvées par contamination dans les urines lors de prélèvement par miction spontanée ou par cathétérisation (Carter et al. 1978).

De même, lors de la réalisation de prélèvements urinaires, des bactéries de l'environnement peuvent contaminer les urines, engendrant un faux positif lors de la culture bactérienne. Il est donc nécessaire de définir un seuil de concentration bactérienne qui permet de s'affranchir de ces deux situations et d'identifier si une bactériurie est significative.

De plus, l'urine est un bon milieu de culture. Un délai excessif entre les prélèvements d'urine et les analyses bactériologiques ou une température inadéquate de stockage favorisant le développement de bactéries peuvent amener à une augmentation de la bactériurie (Watson et Duerden 1977).

Il faut donc prêter une attention particulière aux conditions de prélèvement et de stockage.

Pour toutes ces analyses, différents types de prélèvements sont possibles :

- Un prélèvement par miction spontanée correspond à la récupération des urines lorsque l'animal urine. Il peut être accompagné ou non d'un nettoyage préalable du tractus génital externe afin d'éviter toute contamination avec les poils ou les souillures présentes sur celui-ci.
- La cathétérisation de l'urètre consiste à cathétériser une sonde le long du tractus urinaire jusqu'à la vessie afin d'en récupérer le contenu.
- La cystocentèse qui consiste à prélever les urines directement dans la vessie à l'aide d'une aiguille montée sur une seringue.

Ces trois techniques présentent des avantages différents et seront plus ou moins appropriées en fonction des critères recherchés. Des urines récoltées par miction spontanée auront un niveau de contamination plus important que des urines prélevées par cystocentèse (Reine et Langston 2005).

Toutefois, cette méthode étant plus invasive, elle peut être à l'origine de micro-traumatismes engendrant des micro-hémorragies à l'origine d'hématurie ou des déchirures de la paroi vésicale. De plus, la cystocentèse est un prélèvement qui n'est pas réalisable sur certains animaux dont par exemple la vessie est difficile à localiser et qui nécessite un personnel formé et un animal coopératif.

Il faut donc adapter les techniques de prélèvement aux analyses souhaitées ainsi qu'au contexte et envisager les modifications que ces techniques peuvent apporter aux résultats (Reine et Langston 2005).

Ces techniques différentes sont toutefois standardisées afin d'avoir des prélèvements d'urines utilisables. Il faut, en effet, éviter toute contamination ou tout changement physico chimique des urines qui modifieraient les résultats d'analyse. De plus en médecine vétérinaire, contrairement à la médecine humaine, certaines contraintes font obstacle à la réalisation optimale de ces analyses. En effet, le gold standard de l'analyse d'urine correspond à une

analyse faite au chevet du patient, dans les plus brefs délais après le prélèvement, sans transport ni stockage.

Cette situation n'est pas toujours réalisable en médecine vétérinaire où le praticien ne peut pas toujours effectuer l'analyse juste après le prélèvement. Par exemple, pour l'examen bactériologique des urines, il y a habituellement un délai plus ou moins long entre le prélèvement, l'acheminement au laboratoire et l'analyse de celui-ci. Durant ce délai, en fonction des analyses à effectuer, les urines sont en général réfrigérées voire congelées ou laissées à température ambiante. Les conséquences sur les différents composants des urines ne sont pas les mêmes.

Toutes ces étapes qui se déroulent depuis la prise de contact avec l'animal jusqu'à la prise en charge des prélèvements par un technicien de laboratoire pour effectuer l'analyse s'appellent la phase pré-analytique.

Cette phase prend en compte la prescription, le prélèvement, l'identification des prélèvements, le transport jusqu'au laboratoire, et toutes les phases de pré-traitement que subissent les spécimens avant d'être analysés.

La phase pré-analytique est une phase clef car de nombreux dysfonctionnements élémentaires peuvent survenir et mener à un résultat invalide, même si la phase analytique est réalisée correctement.

Le pourcentage d'erreur commis dans les laboratoires vétérinaires est d'environ 0.8 à 1.3 % (Hooijberg, Leidinger, et Freeman 2012) ce qui est équivalent à ce que l'on observe dans les laboratoires humains. Parmi ces erreurs, 85 à 68.2 % de celles-ci sont effectuées lors de la phase pré-analytique définissant ainsi cette phase comme la plus critique (MURAT et Ecole Nationale de la Santé Publique. (E.N.S.P.). Rennes. FRA / com. 2003).

Cet important pourcentage d'erreur est dû au fait que les étapes de cette phase sont manuelles et non automatisées comme lors de la phase analytique ; cette phase est donc plus difficile à calibrer. De nombreux opérateurs sont également acteurs de cette phase, le pourcentage d'erreurs humaines est donc plus élevé. Pour éviter ces erreurs, il faut standardiser au maximum les différentes étapes. Pour chaque étape de la phase pré-analytique il faut donc obligatoirement fournir des procédures claires, compréhensibles et applicables par tous les opérateurs (Hooijberg, Leidinger, et Freeman 2012).

Dans ce contexte, une évaluation des facteurs pré-analytiques est nécessaire afin de mieux objectiver les résultats de l'analyse d'urine.

Le but de cette étude est d'étudier l'évolution du RPCU, de la bactériologie et de la cytologie d'urines conservées à 4°C et obtenues par miction spontanée.



# **PREMIERE PARTIE : LES FACTEURS PRE-ANALYTIQUES INTERVENANT DANS L'ANALYSE D'URINE**

## **1. Le statut de l'animal au moment du prélèvement**

### *1.1. L'influence de l'heure du prélèvement*

Certaines substances sécrétées ou prises en charge par le métabolisme de l'animal présentent des variations de concentration au cours de la journée, dû à une activité métabolique différente en fonction de l'heure. C'est ce que l'on appelle le rythme circadien. Il correspond à un rythme biologique d'une durée de 24 heures environ, qui possède au moins un cycle par période de 24 heures (Noh et al. 2011). La variabilité de ces substances ou métabolites peuvent entraîner la variabilité de certaines caractéristiques chimiques des substances produites par le corps. En ce qui concerne l'analyse d'urine, ces principales variations au cours de la journée toucheront la densité urinaire, l'osmolarité, la protéinurie et par conséquent le RPCU.

#### *1.1.1. Protéinurie et RPCU*

Comme expliqué précédemment, l'excrétion protéique urinaire varie au cours de la journée. Elle dépend entre autres de l'heure de collecte, de l'aliment, de l'exercice physique réalisé. Cependant le RPCU permet de s'affranchir de ces variations et permet une bonne évaluation de la protéinurie moyenne sur 24 heures (Price, Newall, et Boyd 2005).

Toutefois, le RPCU peut lui aussi varier le long de la journée ou de jour en jour. Ces variations aléatoires biologiques du RPCU ne dépendent ni de l'évolution d'une quelconque maladie ni de la réponse au traitement. Elles sont physiologiques.

Les lignes de conduite approuvées recommandent, afin d'obtenir une valeur représentative moyenne du RPCU, d'effectuer plusieurs mesures du RPCU s'il n'est pas supérieur à 2 avant d'émettre un diagnostic, un pronostic ou de mettre en place un traitement (Lees et al. 2005). Cela permet d'avoir une valeur moyenne seuil du RPCU de l'individu et de s'affranchir des variations quotidiennes.

Effectuer des RPCU est toutefois coûteux, en termes pratiques, il faut privilégier les méthodes qui permettent de s'affranchir de ces variations quotidiennes du RPCU tout en effectuant le moins de mesures possibles.

Dans ce contexte il a été montré que déterminer le RPCU d'un mélange de trois urines différentes revient à faire la moyenne des RPCU de ces trois urines (LeVine et al. 2010).

Toutefois cette méthode de mise en commun des urines ne peut pas être réalisée pour des animaux ayant des affections aiguës pour lesquels le RPCU peut drastiquement changer d'un jour sur l'autre. Cette méthode ne serait alors plus représentative de la moyenne des RPCU. Elle n'est viable que pour s'affranchir des variations quotidiennes aléatoires du RPCU et non des variations dues à une évolution de maladie.

Une autre méthode afin de s'affranchir des variations quotidiennes du RPCU est de déterminer un ordre de grandeur pour lequel les variations du RPCU sont considérées comme physiologiques (Nabity et al. 2007).

**Table 1.** Subsequent UPC values required to demonstrate a significant (95% confidence) decrease or increase in UPC following an initial determination.

Initial UPC	Subsequent UPC	
	Value required to demonstrate significant decrease	Value required to demonstrate significant increase
0.5	<0.1	>0.9
1	<0.3	>1.7
2	<0.9	>3.1
3	<1.5	>4.5
4	<2.1	>5.9
5	<2.8	>7.2
6	<3.5	>8.8
7	<4.2	>9.8
8	<4.9	>11.1
9	<5.6	>12.4
10	<6.3	>13.7
11	<7.1	>14.9
12	<7.8	>16.2

UPC, urine protein : creatinine.

**Tableau 1 : Tableau d'interprétation de deux valeurs successives de RPCU**

En fonction de la valeur du RPCU, ce tableau montre à partir de quels intervalles on peut conclure à une évolution du RPCU et non à une variation biologique aléatoire de celui-ci. Quand une valeur de RPCU par rapport au RPCU initial est en dehors de l'intervalle donné par ce tableau, il y a de grandes chances que le RPCU de l'animal ait véritablement évolué. Si



la différence de RPCU est dans l'intervalle donné par ce tableau, il faut réitérer la mesure afin de différencier les variations aléatoires biologiques et les légères variations pathologiques de la protéinurie.

### *1.1.2. Densité et osmolarité urinaire*

Les animaux diurnes tels que le chien ont une production d'urine plus importante le jour que la nuit.

En effet, la production d'urine et la miction prédominent durant la phase active c'est-à-dire durant la journée. A contrario, pendant la nuit, le stockage dans la vessie augmente et la fréquence de miction diminue afin de permettre le repos et le sommeil pendant la phase de repos.

De plus, le débit de filtration glomérulaire décroît de 30 % pendant la nuit (Noh et al. 2011).

Par conséquent, ceci entraîne une augmentation de la densité urinaire la nuit par rapport à la matinée (Noh et al. 2011). Il en découle que la densité urinaire des premières urines collectées est plus importante que celle des urines du reste de la journée ou du soir (van Vonderen, Kooistra, et Rijnberk 1997).

De même, l'excrétion d'électrolytes est significativement plus basse pendant la phase de sommeil que pendant la journée (Noh et al. 2011).

Les raisons de cette variation de densité urinaire de long de la journée ne sont pas encore connues, même si certains suspectent l'existence d'une horloge interne à certains organes tels que le rein ou la vessie (Noh et al. 2011).

La densité n'est pas la seule variable qui varie au cours de la journée, l'osmolarité urinaire varie avec celle-ci. En effet, l'osmolarité des premières urines collectées du matin est plus élevée que l'osmolarité des urines du soir (van Vonderen, Kooistra, et Rijnberk 1997).

Sur un chien normo-hydraté, pour des urines collectées au hasard dans la journée, la valeur de densité urinaire peut varier de 1.006 à 1.050 et celle de l'osmolarité de 161 à 2 830 mOsm/kg (van Vonderen, Kooistra, et Rijnberk 1997).

Par conséquent, un prélèvement dont la valeur de densité urinaire est anormale peut se normaliser par la suite. Un second prélèvement peut donc être nécessaire pour confirmer ou non une anomalie.

## 1.2. L'influence de l'alimentation

### 1.2.1. pH urinaire

Le pH urinaire normal d'un chien peut varier entre 4 et 8. Il est en général constant pour un individu mais peut varier au cours de la journée. Les principales variations sont dues à l'alimentation.

Déterminer le pH d'une urine est primordial dans le cadre d'une analyse d'urine car la valeur du pH permet de créer des conditions particulières à la formation de cristaux. Les cristaux de struvites ou phosphate-ammoniac-magnésien (PAM) auront tendance à se former pour des pH alcalins, supérieurs à 6.5, alors que les cristaux d'oxalates de calcium auront tendance à se former dans des urines au pH acide.

Il est donc nécessaire d'évaluer les variations du pH des urines en fonction de l'alimentation donnée, surtout quand on doit gérer des cristalluries.

Chez le chat, il a été prouvé que les individus nourris par des repas fixes dans le temps présentent un pic marqué d'augmentation de leur pH urinaire 4 heures post prandial. Ce pic n'est pas observé chez les chats nourris à volonté qui eux ont une légère augmentation du pH sans pic (Finke et Litzenberger 1992).

Cette étude a également montré que, plus le repas est important, plus le pic d'alcalinisation des urines l'est. Le pic d'augmentation de pH est également lié à la concentration en protéines de l'aliment : plus celui-ci est riche en protéine plus le pic est important (Finke et Litzenberger 1992).

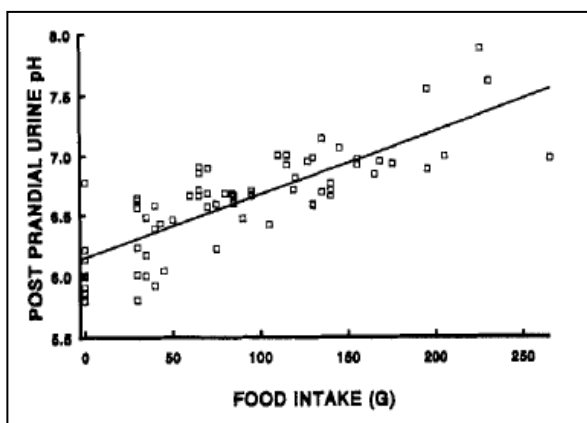


Figure 1 : Effet de la prise de nourriture sur le pH urinaire post prandial de chats adultes

Cette augmentation de pH post prandiale appelée « alkaline tide » ou vague alcaline est due à la formation d'acide gastrique qui suit l'ingestion de nourriture. Afin de compenser cette perte d'acide et donc cette vague alcaline, le rein sécrète des bicarbonates.

Plus le repas est important, plus la quantité d'acide gastrique est importante ce qui explique que le pH urinaire augmente également. De même, plus la concentration en protéine est importante, plus la concentration en acide gastrique sécrétée l'est également, ce qui entraîne un pic plus important.

L'« alkaline tide » ou vague alcaline atteint un seuil au-delà duquel le pH urinaire n'augmente plus. Ce seuil est d'environ 7.5 (Finke et Litzenberger 1992).

Chez le chien, un pic d'alcalinisation des urines n'est détecté que dans certains cas. Les chiens nourris avec de la nourriture sèche type croquettes ne présentent pas de pic (Gleaton and al. 2001), alors que ceux nourris avec une alimentation humide en présentent un (Stevenson and al. 2000).

Cette augmentation de pH post prandiale peut être un facteur favorisant à la formation de cristaux de struvites qui se forment à pH alcalin. C'est pourquoi il est recommandé pour les chats qui ont des problèmes d'urolithiases de privilégier une alimentation à volonté, ou, dans la mesure du possible, une alimentation la plus fractionnée possible.

Les variations de pH dépendent également du type d'aliment utilisé.

Les animaux nourris avec de la nourriture humide auront tendance à avoir des urines plus acides que les animaux nourris avec de la nourriture sèche. Ceci est dû à l'oxydation des acides aminés sulfurés, de la méthionine et de la cystéine contenu dans la nourriture humide (Finke et Litzenberger 1992).

La composition de l'aliment va également avoir un rôle sur le pH. Les alimentations « gastro-intestinale », normale et « urinaire » n'engendrent pas de variation de pH urinaire.

A contrario, l'alimentation « rénale » elle entraîne une augmentation du pH urinaire (Gleaton et al.2001).

Ceci est dû au fait qu'elle est formulée pour neutraliser l'acidose métabolique liée à l'insuffisance rénale et donc favorise la vague alcaline associée à l'alcalose urinaire.

Toutefois il est important de signaler que certains aliments type « urinaires » présentent des agents acidificateurs d'urine, nécessaires à la dissolution des cristaux de struvites. Dans l'étude précédente, aucune acidification des urines n'a été décrite suite à l'ingestion d'alimentation « urinaire ».

### *1.2.2. Cristaux urinaires*

Comme expliqué précédemment, la détermination du pH urinaire est fondamentale dans la gestion de la cristallurie. Une des principales applications de cette gestion est la mise en place d'une alimentation type « urinaire » lors de présence de cristaux de struvites. Ce type d'aliment qui contient une teneur modérée en protéines (15 à 20%), peu de fibres pour diminuer les pertes d'eau par les matières fécales, une teneur élevée en sel ainsi qu'un agent acidificateur des urines permet d'augmenter la diurèse, et de diminuer le pH urinaire afin de permettre la dissolution des cristaux de struvites. Toutefois, la mise en place de ce type d'alimentation n'est utile en traitement que pour les cristaux de struvites. Les cristaux d'oxalate de calcium ne peuvent pas être dissous médicalement, la seule solution thérapeutique en cas de présence de tels calculs est le retrait de ceux-ci.

Le type d'alimentation a également un rôle sur la cristallurie. En effet chez les chats, il a été montré qu'un mélange de nourriture sèche et humide entraîne une plus grande cristallurie qu'une nourriture exclusivement humide (Sturgess et al. 2001).

Ceci est lié au fait que les chats nourris avec de la nourriture sèche ont une densité urinaire plus élevée et donc des urines plus concentrées et des cristaux qui ont plus de chance de se former.

### *1.2.3. Protéinurie et RPCU*

Les variations de protéinurie et de RPCU en fonction de l'alimentation dépendent de l'état de santé de l'animal.

Chez l'homme et chez le rat atteints de syndrome néphrotique, plus la quantité en protéines de l'alimentation est importante, plus la perte d'albumine urinaire est importante et donc plus le RPCU est augmenté. Le but thérapeutique de l'alimentation pour les patients atteints de syndrome néphrotique est de diminuer la quantité de protéines apportées par l'alimentation afin d'éviter toute effraction protéique.

Chez les chiens qui présentent des maladies rénales glomérulaires, le RPCU augmente quand les chiens sont nourris avec des aliments riches en protéines (Burkholder et al. 2004).

L'évolution du RPCU lors d'un changement d'alimentation n'est pas immédiate. Il faut attendre quatre semaines entre le passage d'un aliment pauvre en protéines à un aliment riche en protéines pour observer une augmentation du RPCU (Burkholder et al. 2004).

Il est donc préférable, pour les animaux atteints de maladies rénales entraînant une protéinurie, de favoriser les alimentations pauvres en protéines.

Toutefois, avec ce type d'alimentation il faut prendre garde à ne pas trop restreindre l'animal en énergie et à bien couvrir les besoins de celui-ci.

En revanche, les animaux ne présentant aucune anomalie rénale et un RPCU normal n'ont aucune variation du RPCU quand leur alimentation a des teneurs variables en protéines (Burkholder et al. 2004, Jergens et al. 1987).

#### *1.2.4. Densité urinaire*

La densité urinaire peut également varier en fonction de la composition de l'aliment donné à l'animal.

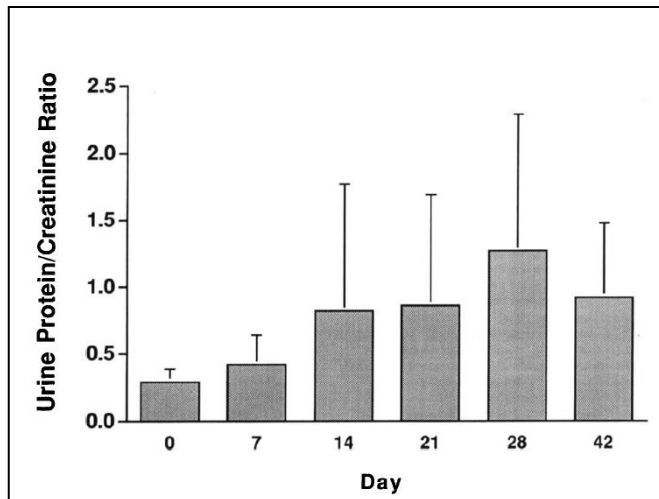
En effet, la densité urinaire augmente chez les chiens qui ont un régime hautement protéiné par rapport à un régime faiblement protéiné (Burkholder et al. 2004).

### ***1.3. L'influence de l'état de santé de l'animal***

#### *1.3.1. Protéinurie et RPCU*

Comme expliqué précédemment, de nombreux facteurs peuvent interférer avec le RPCU et provoquer une protéinurie non présente initialement. Par exemple, certaines hyperthermies peuvent entraîner une augmentation de la protéinurie sans qu'il n'y ait de lésions rénales. De même, l'hypertension systémique entraîne également une augmentation de la protéinurie.

L'administration de certaines molécules peut également avoir un effet sur la protéinurie. En effet, l'administration de glucocorticoïdes à long terme entraîne une augmentation importante de la protéinurie et donc du RPCU (Schellenberg et al. 2008, Waters et al. 1997).

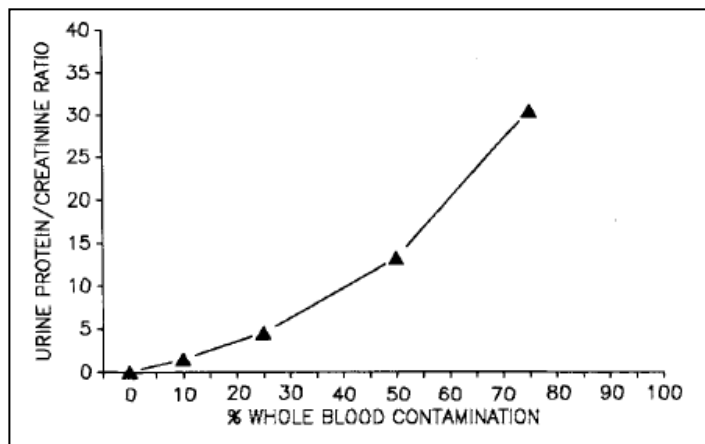


**Figure 2: RPCU moyen de 9 chiens traités avec de la prednisolone PO**

Le mécanisme de cette protéinurie induite par les glucocorticoïdes est mal connu mais peut être dû à des effets immunosuppresseurs et des lésions glomérulaires (Waters et al. 1997).

De même, certaines anomalies dans l'analyse d'urine peuvent entraîner une variation non physiologique du RPCU et mener à des faux positifs de protéinurie.

L'hématurie, si elle est importante, entraîne une augmentation de la protéinurie et du RPCU. Plus celle-ci augmente plus le RPCU augmente (Bagley et al. 1991).



**Figure 3 : Effet de la contamination par du sang d'urines sur le RPCU de chiens**

Pour des valeurs d'hématurie modérées (5 à 20 globules rouges par champ), c'est à dire pour une contamination d'environ 10 %, le RPCU n'est pas modifié significativement. Il faut donc une hématurie massive pour engendrer une variation du RPCU. Il n'y a pas non plus de

proportionnalité entre l'ordre de grandeur d'augmentation du RPCU et celui d'augmentation de l'hématurie, surtout pour des hématuries modérées.

De même, la pyurie entraîne l'augmentation de la protéinurie et du RPCU (Bagley et al. 1991; Vaden et al. 2004).

Dans le cas de cystotomie ou de cystite, le RPCU augmente et reste élevé pendant les trois premiers jours post-opératoires de la cystotomie.

Dog	Cystotomy*			Experimental Cystitis*		
	Pre	Post 1	Post 2	Pre	Post 3	Post 4
1	0.02	0.50	1.01	0.10	25.4	9.7
2	0.03	1.05	1.00	0.10	14.6	40.8
3	0.00	0.44	1.78	0.10	20.3	12.0
4	0.11	0.86	1.65	0.20	6.5	4.2
5	0.11	0.12	1.85	0.30	1.5	2.0
6	0.00	0.57	0.80			
7	0.16	0.52	1.02			
8	0.08	1.01	1.02			
9	0.15	0.44	0.77			
10	0.18	0.52	1.12			
11	0.25	1.80	1.05			
Median	0.11	0.52	1.02	0.10	14.6	9.7

U P/C: urine protein to creatinine ratio; Pre: precystotomy or preinoculation; Post 1: postcystotomy day 1; Post 2: postcystotomy day 2; Post 3: postinoculation day 3; Post 4: postinoculation day 4.  
\* Figures refer to U P/C.

**Tableau 2: Effet de la cystotomie et de la cystite infectieuse expérimentale sur le RPCU**

Dans ces deux cas, la quantité de protéines exsudées par le bas appareil génital est proportionnelle à la sévérité de l'atteinte de la vessie. Plus l'atteinte est sévère plus le RPCU est augmenté (Bagley et al. 1991).

Enfin, la concentration en créatinine urinaire est directement liée à la densité urinaire. Le RPCU dépend donc de cette densité. Il convient donc d'interpréter les résultats du RPCU en fonction de la densité urinaire (Rossi et al. 2012).

En conclusion, il convient donc d'effectuer l'analyse urinaire complète avant d'effectuer un RPCU. En fonction des résultats de celle-ci, il faut modérer le RPCU obtenu, afin de ne pas obtenir de faux positifs.

### 1.3.2. Densité et osmolarité urinaire

Le principal facteur jouant sur la variation de la densité et l'osmolarité des urines d'un chien est son état d'hydratation. En effet plus un animal est déshydraté, plus sa densité urinaire et son osmolarité urinaire sont élevées (Steinberg, Drobatz, et Aronson 2009).

Lors de déshydratation, les valeurs de ces deux variables augmentent jusqu'à atteindre 1.076 pour la densité et 2738 mOsm/ kg pour l'osmolarité (van Vonderen, Kooistra, et Rijnberk 1997).

A contrario, ces deux variables diminuent lors d'ajout de fluide ou lors d'administration de glucocorticoïdes (Steinberg, Drobatz, et Aronson 2009).

### 1.3.3. Albumine, retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) urinaires

Le diagnostic de lésions rénales est un défi en médecine vétérinaire de par le peu d'outils diagnostics disponibles. Outre la détermination d'une protéinurie rénale signe de lésions rénales il existe de nouvelles techniques plus précoces et plus précises : il s'agit de la détermination de l'albuminurie, de la concentration en Retinol-binding proteine (RBP), et des activités enzymatiques urinaires tels que le N-Acétyle- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG).

Ces trois molécules ne sont pas physiologiquement sensées être détectées dans les urines.

Chez les chiens atteints d'insuffisance rénale chronique, ces trois marqueurs sont significativement augmentés (Pascale M. Y. Smets et al. 2010).

Isoler de l'albumine, qui est une protéine de poids moléculaire moyen, dans les urines est un signe de lésion glomérulaire alors qu'isoler du RBP, protéine de poids moléculaire moyen, ou du NAG permet de suspecter une lésion tubulaire.

L'intérêt de ces marqueurs est qu'ils permettent le diagnostic précoce des maladies rénales, bien avant la mise en évidence d'une protéinurie (P.M.Y. Smets et al. 2010). Ils permettent également et mettre en avant les lésions subcliniques du rein lors de phénomènes infectieux, endocriniens (tels le pyomètre, le syndrome de Cushing, ou la leishmaniose), immuns, toxiques ...



Tout comme la protéinurie et le RPCU, l'albuminurie, la concentration en RBP et l'activité en NAG urinaire peuvent varier en fonction de la présence d'autres anomalies dans l'analyse d'urine.

En effet, à partir d'un certain seuil d'hématurie, c'est-à-dire 3 croix de sang à la bandelette, la concentration en RBP et l'albuminurie augmentent. L'activité en NAG reste constante (Pascale M. Y. Smets et al. 2010).

De même il a été montré que les chiens présentant une pyurie ont plus de chance d'avoir une forte albuminurie (Rossi et al. 2012).

La conjonction de l'hématurie avec la pyurie augmente également l'albuminurie (Vaden et al. 2004).

Il est donc important de prendre en considération l'intensité de l'hématurie et de la pyurie d'un spécimen d'urine avant de conclure à l'augmentation d'albuminurie et de concentration en RBP afin d'éviter les faux positifs.

#### ***1.4. L'influence du stress***

L'état de stress d'un animal peut avoir un effet sur l'analyse d'urine, en particulier sur la quantité de protéines urinaires isolées. Déterminer l'état de stress d'un animal est un défi pour la médecine vétérinaire, toutefois certaines situations sont plus à l'origine de stress que d'autres.

Ainsi les chiens enfermés dans un environnement pauvre, comme des cages d'hospitalisation, pendant une certaine période, qui sont alors considérés comme stressés chroniques, ont un rapport adrénaline/créatinine urinaire qui est plus élevé que les chiens de propriétaires (Bodnariu. 2008).

De plus, les chiens qui sont enfermés pour la première fois dans des cages d'hospitalisation ont un ratio cortisol/créatinine urinaire plus élevé que les chiens de propriétaires (Bodnariu.2008).

Plus le stress est important (vaccination, examen orthopédique et hospitalisation de façon croissante), plus le ratio cortisol/créatinine urinaire augmente (van Vonderen, Kooistra, et Rijnberk 1998).

Ces deux molécules sont connues pour être les molécules du stress. Ainsi, un stress chronique ou aigu peut avoir des conséquences sur l'analyse d'urine via ces deux marqueurs.

En ce qui concerne la protéinurie, les chiens dont le RPCU est effectué sur des urines collectées lors d'hospitalisation en cage est plus élevé que celui effectué sur des urines récupérées chez le propriétaire (MacCaw. 1985).

De plus, une autre étude a montré que les animaux hospitalisés avaient un RPCU plus important que celui d'animaux non hospitalisés à condition que ce RPCU soit déjà élevé et que l'animal soit déjà considéré comme protéinurique (RPCU >0.5) (Duffy, Specht, et Hill 2015).

Cette augmentation ne s'explique pas uniquement par la localisation de prélèvement de l'urine (hôpital ou domicile) mais serait plutôt due à l'addition de plusieurs facteurs situationnels qui entraînerait un stress plus important.

Le stress provoque des changements dans la concentration d'adrénaline, de cortisol et dans la pression artérielle qui peuvent affecter temporairement la filtration glomérulaire ce qui pourrait expliquer le changement de RPCU.

De plus, l'augmentation du cortisol urinaire avec le stress a également pour conséquence de diminuer la densité urinaire (van Vonderen, Kooistra, et Rijnberk 1998).

## **2. L'influence du mode de prélèvement sur les résultats**

En médecine vétérinaire, il existe trois techniques différentes de prélèvement des urines.

Celles-ci peuvent être collectées par cystocentèse c'est-à-dire par ponction directe de la vessie, par cathétérisation vésicale ou par miction spontanée. Lors d'une cystocentèse, après avoir visualisé la vessie au toucher ou grâce à la sonde d'échographie, celle-ci est ponctionnée à l'aide d'une aiguille puis l'urine présente dans la vessie est aspirée grâce à une seringue (Reine et Langston 2005). Lors d'une cathétérisation vésicale, après nettoyage de la zone urogénitale une sonde stérile est introduite dans le méat urinaire et coulisse dans les voies urinaires jusqu'à prélever de l'urine. Enfin, lors de prélèvement par miction spontanée les urines sont prélevées directement lors de la miction de l'animal à l'aide d'une barquette stérile tout en évitant le plus possible les contaminations.

Ces trois techniques demandent des moyens différents. La cystocentèse requiert un personnel formé et efficace, ainsi qu'un animal calme ou sédaté. La cathétérisation peut nécessiter une sédation de l'animal surtout pour les femelles. Enfin, la récolte par miction spontanée est la technique présentant le moins d'impératifs de moyens. Toutefois ces différentes voies de prélèvement peuvent changer les résultats de l'analyse d'urine.

## **2.1. Bactériurie**

La bactériurie est définie chez le chien comme chez l'homme par la présence de bactéries dans les urines. Celles-ci sont normalement un milieu stérile.

Toutefois, la présence de bactéries dans les urines peut ne pas être pathologique, mais uniquement être signe de contamination lors du prélèvement. C'est pour cela qu'en médecine vétérinaire comme en médecine humaine des seuils ont été décrits afin de déterminer si les bactéries isolées lors de la culture sont des bactéries pathogènes ou des bactéries issues de contamination.

Les bactéries dont le comptage est inférieur à 10 000 UFC/mL sont considérées comme contaminantes, c'est-à-dire non pathogènes. Les comptages entre 10 000 et 100 000 UFC/mL sont considérés comme douteux et les comptages supérieurs ou égaux à 100 000 UFC/mL sont considérés comme infectés (Carter et al, 1978).

Les bactéries les plus souvent isolées lors de culture d'urine chez le chien sont *Escherichia coli*, *Proteus spp* et *Pseudomonas* (Carter et al.1978).

Toutefois, il faut préciser cette notion de seuil en fonction de la méthode de prélèvement.

En effet, le prélèvement par miction spontanée présente une plus forte contamination et donc plus de faux positifs que la cathétérisation qui elle-même génère plus de contamination que la cystocentèse (Carter et al, 1978).

La cystocentèse est la seule technique qui récupère directement les urines dans la vessie et qui évite la contamination par les bactéries de l'urètre, du prépuce et de la vulve. A contrario, les urines récoltées par miction spontanée ou cathétérisation sont riches en bactéries contaminantes et peuvent ne pas être représentatives des bactéries contenues dans les urines. Il est par ailleurs conseillé, lorsque l'on effectue une bactériologie sur urines prélevées par miction spontanée ou cathétérisation de le faire sur les urines de milieu de miction qui sont moins riches en bactéries cellules et débris contenues dans l'urètre, le prépuce ou la vulve (Reine et Langston 2005, Cormer et al. 1981). Cette contamination est surtout présente chez les femelles (Cormer et al. 1981)

De plus, outre la contamination par les bactéries présentes dans la bas appareil urinaire, des contaminations bactériennes peuvent également survenir lors de prélèvement par miction spontanée à cause des souillures (féces ou poils) qui peuvent être présentes sur la zone urogénitale et contaminer les urines (Reine et Langston 2005).

La cystocentèse est donc la méthode la mieux adaptée à l'étude de la bactériurie (Carter et al. 1978, Sørensen et al. 2016, ).

Il faut toutefois bien maîtriser la technique de la cystocentèse car une erreur de manipulation telle que la ponction du colon peut entraîner une contamination des urines entraînant un faux positif pour la bactériurie (Reine et Langston 2005).

En fonction de ces différents stades de contamination, les seuils permettant d'identifier une infection urinaire ne sont donc pas semblables.

Pour certains auteurs, le seuil varie donc en fonction du mode de prélèvement. Pour un prélèvement d'urines de chien prélevées par cystocentèse, aucune bactérie ne doit être cultivée.

Pour le sondage urinaire, la limite supérieure est de 10 000 UFC /ml et pour la miction spontanée, cette limite est de 100 000 UFC/ml (MacLeay et Kohn 1998).

En prenant en compte ces seuils, un diagnostic de bactériurie peut très bien être mis en place avec des urines prélevées par miction spontanée, le taux de faux positif pouvant aller de 4 à 16 % selon les études (Sørensen et al. 2016, Carter et al. 1987) .

Enfin, si de nouvelles analyses urinaires sont à effectuer, il faut éviter la cathétérisation vésicale surtout chez la femelle chez qui, dans 20 % des cas, peut entraîner des infections du tractus urinaire (Biertuemfel et al. 1981).

## ***2.2. Hématurie***

Des urines saines ne doivent normalement pas contenir de sang. Si elles en contiennent, ce sang peut être d'origine pathologique ou bien provenir d'une contamination iatrogène lors du prélèvement. Il est nécessaire de bien déterminer l'origine de cette hématurie afin d'affiner le diagnostic. La cystocentèse est le mode de prélèvement qui augmente le plus les chances d'avoir une hématurie iatrogène (Reine et Langston 2005, Huvé et al.2016).

En effet, si lors du prélèvement l'aiguille traverse la vessie ou touche des vaisseaux adjacents à la vessie, de microhémorragies peuvent avoir lieu, entraînant une hématurie iatrogène.

Pour évaluer une hématurie, il convient donc plutôt d'utiliser la miction spontanée.

### ***2.3. Protéinurie et RPCU***

Les études concernant les résultats du RPCU en fonction du mode de prélèvement sont contradictoires. Ces différentes études s'appuient sur la présence ou non d'un sédiment actif. Selon un auteur, en cas de sédiment inactif, les résultats de RPCU seront similaires que ce soit par cystocentèse ou par miction spontanée alors qu'ils ne seront pas identiques lors de présence d'un sédiment actif (Beatrice et al. 2010).

Contradictoirement, d'autres études ont montré que, qu'il y ait ou non présence de sédiment actif, les résultats via les deux techniques de prélèvement étaient similaires (Huvé et al. 2016).

Ces deux études doivent donc mener à la prudence en terme de conclusion lors de RPCU réalisées sur des urines prélevées par miction spontanée et présentant un sédiment actif.

### ***2.4. Albumine, retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase urinaires***

Les différentes méthodes de prélèvement d'urine ne semblent pas affecter le dosage de ces trois marqueurs. En effet il n'y a pas de différence significative entre la concentration en albumine, en NAG et en RBP des urines collectées par cystocentèse et par miction spontanée (P.M.Y. Smets et al. 2010).

## **3. L'influence de la méthode de conservation du spécimen**

### ***3.1. Délai d'analyse***

#### ***3.1.1. Protéinurie et RPCU***

Des urines dont le RPCU doit être déterminé peuvent rester 4 heures à température ambiante sans souffrir de modifications. A partir de 12 heures de stockage à température ambiante, le RPCU augmente jusqu'à être significativement différent du RPCU initial (Rossi et al. 2012). Cette augmentation de RPCU est due à l'augmentation des protéines dans les urines et non à la diminution de la créatinine.

La stabilité du RPCU pendant 4 heures à température ambiante ne dépend ni du mode de prélèvement, ni de la présence ou non de sédiment actif. De même son augmentation à partir de 12 heures post-prélèvement ne dépend pas de ces facteurs (Rossi et al. 2012).

A 4°C (conservation au réfrigérateur), le RPCU augmente au bout de 12 heures après le prélèvement. Toutefois, cette augmentation est moindre par rapport à la conservation à température ambiante.

Enfin, à -20 °C (conservation au congélateur), le RPCU reste stable jusqu'à une semaine après prélèvement (Rossi et al. 2012).

Il est donc nécessaire de varier les lieux de stockage en fonction des délais de réalisation du RPCU : si celui-ci peut être effectué dans les 4 heures suivant le prélèvement, les urines peuvent être stockées à température ambiante ou à 4°C, si le délai est plus long il convient de les conserver à -20 °C.

### 3.1.2. *Bactériurie*

L'urine est un bon milieu de culture. Un délai excessif entre les prélèvements d'urine et les analyses bactériologiques peut amener à une augmentation de la bactériurie.

Pour empêcher les faux positifs il est conseillé de faire l'analyse d'urine et la bactériologie juste après avoir récupéré le prélèvement. Toutefois peu de cliniques ont le matériel nécessaire pour effectuer l'analyse urinaire et bactériologique dans leurs locaux. Les urines doivent la plupart du temps être envoyées dans des laboratoires spécialisés subissant un délai conséquent entre le prélèvement et l'analyse.

Le délai le plus souvent conseillé entre le prélèvement et l'analyse est de 2 heures à température ambiante (Hindman, Tronic, et Bartlett 1976). Toutefois certaines études ont montré que les résultats de bactériologie urinaire étaient stables au bout de 4 heures après le prélèvement (Jefferson et al. 1975).

Il est donc fondamental d'effectuer l'analyse bactériologique le plus rapidement après prélèvement. Un délai de 4 heures est toutefois acceptable, et les résultats pourront être analysés sans craindre de faux positifs.

### 3.1.3. Cristallurie

L'enjeu principal de l'analyse des cristaux urinaire est d'avoir une bonne spécificité et d'éviter la formation de néo cristaux, qui se forment in vitro et qui ne sont pas présents in vivo. L'identification de ces néo cristaux est primordiale afin d'éviter les faux positifs.

La durée d'attente entre le prélèvement et l'analyse a une conséquence sur la formation de cristaux in vitro.

En effet, plus le délai d'attente est long, plus les cristaux formés in vitro sont importants, que ce soient les cristaux de struvites ou d'oxalates de Calcium. Il est donc conseillé d'analyser les urines au plus vite afin d'éviter la formation de ces cristaux qui sont des artefacts et qui ne sont pas représentatifs de la cristallurie initiale (Albasan et al. 2003).

Cependant, malgré la formation de ces néo-cristaux, le pH urinaire reste stable quand les urines sont conservées à température ambiante ou à 4°C et ce jusqu'à 12 heures (Albasan et al.2003).

La formation de ces néo cristaux n'est donc pas due à l'évolution du pH urinaire.

### 3.1.4. Densité urinaire

La densité urinaire des urines collectées par miction spontanée, dans un récipient adéquat (type barquette stérile) et conservées dans une seringue n'évolue pas au cours du temps que ce soit à température ambiante ou à 4°C (Steinberg, Drobotz, et Aronson 2009, Albasan et al. 2003). Toutefois si ces urines ont été prélevées grâce à une litière non absorbante ou à l'aide d'une alaise, la densité urinaire aura tendance à augmenter avec le délai de stockage (Steinberg, Drobotz, et Aronson 2009).

### 3.1.5. Albumine, retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl-β-D-glucosaminidase urinaires

En ce qui concerne la détermination de la concentration en albumine et en RBP, celles-ci restent stables pendant un long délai à -20 °C (jusqu'à 4 mois) et à -80°C (jusqu'à 12 mois). A

contrario, pour déterminer une activité en NAG, la congélation n'est pas la meilleure solution car son activité diminue à partir de 4 mois post congélation (Pascale M. Y. Smets et al. 2010).

Ces délais de congélation sont importants et à prendre en considération car, l'analyse de ces variables n'étant pas disponible dans de nombreux laboratoires, il faut pouvoir conserver les spécimens d'urine jusqu'à l'analyse, ou du moins déterminer les conditions pré-analytiques adaptées.

### **3.2. Température de conservation**

La plupart du temps, les urines qui ne sont pas analysées immédiatement, sont conservées au réfrigérateur à 4 °C ou encore sont congelées à -20 °C.

#### *3.2.1. Protéinurie et RPCU*

Les concentrations de certains constituants des urines peuvent varier en fonction de la température de stockage de ces urines. La concentration en protéine urinaire est d'autant plus stable que la température de stockage de ces urines est basse. Des urines stockées à -20 °C ont une concentration en protéine plus stable que celles stockées à 4 °C qui elles-mêmes ont une concentration plus stable que celles stockées à température ambiante (Rossi et al. 2012).

Toutefois malgré cette instabilité de la protéinurie à température ambiante, le RPCU reste constant quel que soit la température de stockage. En effet, le RPCU d'une urine stockée à température ambiante et d'une urine stockée à 4 °C reste la même jusqu'à 12 heures et jusqu'à 3 mois si celle-ci est stockée à -20 °C (Rossi et al. 2012). Le fait de réaliser un ratio de la protéinurie sur la créatininurie permet de moduler les variations de la protéinurie.

#### *3.2.2. Albumine, retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl-β-D-glucosaminidase urinaires*

L'albumine, le retinol-binding-protein et le N-acetyl-β-D-glucosaminidase étant des protéines, leur concentration et activité diminuent avec le temps comme expliqué précédemment. Pour éviter cette diminution de leur concentration et activité, les urines peuvent être conservées à des températures plus faibles.



Des urines peuvent être conservées 5 mois à -20 °C et 12 mois à -80 °C sans que la concentration en albumine ne diminue (Pascale M. Y. Smets et al. 2010; Brinkman et al. 2005) bien que certains auteurs ne conseillent pas la congélation à -20°C qui entrainerait une diminution de la concentration et des faux négatifs (Schultz et al. 2000).

Afin que l'albumine urinaire soit le plus stable possible il est conseillé de centrifuger les urines avant stockage à -20 °C (Brinkman et al. 2005).

Au-delà de 5 mois, la concentration en albumine urinaire décline et n'est plus représentative de la valeur initiale, surtout pour les faibles concentrations initiales. Cette diminution est expliquée par la formation de précipitats qui piègent les molécules d'albumine lors de la variation de pH des urines qui accompagne la congélation et la décongélation (Brinkman et al. 2005; Saetun, Semangoen, et Thongboonkerd 2009). Centrifuger ces urines, après décongélation permet la destruction des néo sédiments et permet donc d'obtenir la même concentration en albumine que celle obtenue sur des urines fraîches (Saetun, Semangoen, et Thongboonkerd 2009).

Cette conservation est également vraie pour le RBP. Plus la température de stockage est faible, plus le RBP urinaire est conservé (Pascale M. Y. Smets et al. 2010), cette conservation peut aller jusqu'à 7 mois à -80°C (Schultz et al. 2000).

Cependant à -20°C, température normale de congélation des urines, la concentration en RBP est sous-estimée de 20 % (Schultz et al. 2000). Ceci est dû au fait que lors de la congélation, deux phases se forment, une phase composée d'eau solide uniquement et une autre phase hautement concentrée qui contient toutes les protéines. Cette solution est appelée solution eutectique. Lors de la congélation, la phase aqueuse se solidifie, mais l'autre phase a une température de solidification bien inférieure à -20°C, les protéines contenues dans cette phase sont donc exposées à une solution hautement concentrée en sel qui va attaquer ces protéines et donc entrainer une diminution de la concentration de celles-ci.

Enfin, et contrairement à ce qui a été montré par les autres auteurs, il semblerait que plus les urines sont concentrées, plus la perte de protéine est importante (Schultz et al. 2000).

En ce qui concerne le NAG, cette enzyme n'est ni conservée à température ambiante, ni à 4 °C ni à -20°C (Pascale M. Y. Smets et al. 2010) mais peut être conservée à -80 °C (Schultz et al. 2000).

En conclusion, afin de permettre une meilleure correspondance entre la concentration en protéine obtenue et celle in vivo, il est conseillé d'effectuer les analyses sur des urines fraîches ou des urines conservées à -80°C pendant maximum 8 mois.

### 3.2.3. *Bactériurie*

Afin d'éviter les faux positifs et les faux négatifs il est conseillé de faire l'analyse bactériologique urinaire juste après avoir récupéré le prélèvement d'urine. En effet, la quantité de bactérie contenue dans les urines maintenues à température ambiante double toutes les 20 à 45 minutes (Rowlands et al. 2011).

Toutefois, peu de cliniques disposent du matériel nécessaire pour effectuer l'analyse bactériologique dans leurs locaux. Les urines doivent la plupart du temps être envoyées dans des laboratoires spécialisés et doivent être stockées au préalable. Dans la plupart des situations, les urines sont stockées au réfrigérateur à -4°C pendant l'attente, ceci pour éviter la croissance des cultures bactériennes présentes initialement dans les urines.

A température ambiante, seuls 34 % des spécimens d'urine sont stables au niveau du comptage bactériologique, 4 % voient leur colonie multipliée par 10, 4% par 100, 23% par 1000 et 7% par 10 000 (Padilla et al. 1981).

Au total, 50% des spécimens sont faussement positifs.

Quand les spécimens sont stockés à 4 ° C, les changements sont moins importants. Après 24 h de réfrigération, 65 % des spécimens ont une culture bactérienne similaire à la culture initiale. Les autres pour la plupart ont vu une diminution de leur culture après 24 h de réfrigération tout en restant dans le même ordre de grandeur et donc ont une même interprétation de la bactériologie urinaire (Padilla et al. 1981, Jefferson et al. 1975). Seul 10 % des cultures présentent des faux positifs après 24 heures de stockage à 4 °C.

Enfin, quel que soit la souche isolée, les bactéries les plus souvent isolées ont une culture bactérienne stable a 4°C. Les cultures d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Micrococcus subgroup 3*, and *Streptococcus faecalis* restent en effet stables pendant 72 h de stockage à 4° (Watson et al. 1977).

Il est donc recommandé, s'il n'est pas possible d'effectuer la bactériologie urinaire dans les heures suivant le prélèvement, de stocker les urines à 4°C.

### 3.2.4. *Cristallurie*

Afin d'éviter la formation de néo-cristaux urinaires in vitro, il faut se placer dans des conditions optimales de conservation des urines.

Le stockage à température ambiante a moins de conséquence sur la cristallurie que le stockage à 4°C. Plus la température de stockage est faible, plus la formation de néo-cristaux est importante (Albasan et al. 2003; Sturgess et al. 2001).

En effet, lors de la réfrigération, la solubilité diminue, le prélèvement est alors plus saturé ce qui mène à la précipitation de cristaux qui n'étaient pas présents in vivo. Remettre en suspension et réchauffer un prélèvement stocké à 4°C ne permet pas de dissoudre les néo cristaux (Sturgess et al. 2001).

Il faut donc éviter le refroidissement pour objectiver une cristallurie.

Si toutefois la réfrigération à 4°C est obligatoire, une cristallurie supérieure à 1 000 cristaux / mL est souvent associée à une cristallurie in vivo.

La congélation à -20 °C entraîne la formation de néo-cristaux. En effet, une congélation pendant 24 heures des urines augmente la quantité des différents types de sédiments macroscopiques dans le culot urinaire : on y retrouve des cristaux d'oxalate de calcium ou des cristaux de calciums amorphes en plus grand nombre (Saetun, Semangoen, et Thongboonkerd 2009).

De même la congélation à -70 °C entraîne également la formation de ces cristaux.

Il est donc recommandé pour l'étude de la cristallurie de l'effectuer sur des urines conservées à température ambiante.

### ***3.3. Ajout d'un conservateur***

L'un des grands enjeux de l'analyse d'urine par rapport à la bactériurie est de conserver un ordre de grandeur de bactéries qui reste constant dans le temps. En médecine humaine, afin d'éviter l'augmentation de la population bactérienne, des conservateurs peuvent être ajoutés aux urines si celles-ci ne peuvent pas être analysées dans un bref délai après le prélèvement.

Les urines non préservées dans un conservateur, présentent une bactériurie beaucoup plus importante que des urines fraîches avec ou sans conservateurs, le nombre de faux positifs sur ces urines peut atteindre 46 % après 24 heures et 65 % après 48 heures (Perrin et Nicolet 1992)

L'un des premiers conservateurs d'urine est le « dip-inoculum transport medium outfit » (D.I.T.M.) de Mackey and Sandys (1965).

Ce milieu pauvre en électrolyte empêche le développement des bactéries dans les urines (Porter et Brodie 1969) mais est sélectif pour certaines bactéries, et n'inhibe entre autre pas le développement des Proteus.

De plus, cette technique présente certains désavantages par rapport à la lecture des colonies bactériennes : elle ne permet qu'une petite surface de lecture ce qui pose un problème surtout pour les cultures poly bactériennes et la manipulation des contenus plastiques lors de la lecture peut entraîner une augmentation artificielle du nombre de colonie bactérienne et amener à des faux positifs (Meers et Chow 1990).

Un autre conservateur lui a donc été préféré : l'ajout d'acide borique dans les urines.

Chez l'homme, l'ajout d'acide borique à une concentration de 1.8 % (18 g/L), permet d'empêcher le développement des micro-organismes présents dans l'urine et donc de conserver le nombre et le type de micro-organismes présents initialement dans le spécimen pendant 48 h à température ambiante (Porter et Brodie 1969; Perrin et Nicolet 1992)

Chez le chien et le chat également, l'acide borique agit comme un conservateur chimique en ayant un rôle bactériostatique et en empêchant le développement des bactéries contaminantes et donc les faux positifs (Rowlands et al. 2011).

L'intérêt principal de l'acide borique est son activité bactériostatique à une concentration entre 10 et 20 g/L. Toutefois, dès que la concentration est supérieure à 20 g/L l'acide borique a un effet bactéricide non recherché entraînant des faux négatifs (Meers et Chow 1990).

Si les urines sont conservées à température ambiante dans de l'acide borique à 1.8 %, les cultures des différentes bactéries restent stables pendant 72 h sauf celles de *Pseudomonas aeruginosa* et certaines souches d'*Escherichia Coli* qui diminuent significativement au bout de 24 heures (Watson et Duerden 1977). Toutefois, lors d'infection du tractus urinaire dû à *Escherichia Coli*, la concentration de ces dernières est telle que même si une diminution de concentration a lieux au bout de 24 heures, la culture reste positive (Watson et Duerden 1977).

D'autres bactéries sont sensibles à l'ajout d'acide borique comme les Proteus et les Klebsiela (Porter et Brodie 1969).

Certaines études montrent toutefois que la lecture d'une culture bactérienne d'urines conservées avec de l'acide borique ne peut être effective que si les colonies bactériennes sont très nombreuses.

Il y a donc beaucoup de faux négatifs pour des cultures qui sont douteuses entre  $10^4$  UFC/mL et  $10^5$  UFC/mL (Guenther et Washington 1981).

Il est donc non recevable d'effectuer un suivi d'antibiothérapie suite à une infection de tractus urinaire avec des urines conservées par de l'acide borique (Guenther et Washington 1981).

Enfin, l'utilisation d'acide borique n'entraîne aucune variation de la concentration en albumine ou en sucre des urines, l'hématurie et la pyurie ainsi que le pH urinaire restent constants. En dehors des bactéries, l'acide borique n'a aucun effet sur l'analyse d'urine (Porter et Brodie 1969)

D'autres conservateurs sont utilisés mais moins efficaces. Par exemple l'ajout de 3mL d'une solution de 30% NaCl-3 % polyvinylpyrrolidone (PVP) mélangées à 7 mL d'urines permet la conservation des urines humaines pendant 4 à 6 jours à température ambiante sans changement significatif de la flore (Amies et al. 1971). Toutefois d'autres études ont montré que l'ajout de ce conservateur n'était pas une solution optimale pour la conservation des urines. En effet, ce conservateur n'a pas d'activité bactériostatique pour des bactéries naturellement tolérantes au sel comme *Micrococcus* sous-groupe 3 et a un effet bactéricide beaucoup trop important pour des bactéries d'intérêt telle *Escherichia Coli* (Watson et Duerden 1977).

# DEUXIEME PARTIE : ETUDE VISANT A EVALUER LES MODIFICATIONS DU RPCU, DE LA CYTOLOGIE ET DE LA BACTERIOLOGIE DANS LES URINES DE CHIENS PRELEVEES PAR MICTION SPONTANEE APRES REFRIGERATION

## 1. Matériel et méthode

### *1.1. Protocole expérimental*

#### *1.1.1. Animaux utilisés*

##### *1.1.1.1. Critères d'inclusion*

Cette étude a été réalisée sur des chiens ayant été hospitalisés ou présentés en consultation à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse entre Octobre 2016 et Avril 2017. Au préalable, les animaux ont été inclus uniquement après complète information du propriétaire et la signature du « Formulaire de consentement éclairé » (Annexe 1). Durant cette période, tout chien présenté aux consultations de l'ENVT nécessitant pour raison médicale (investigation d'une maladie rénale ou avec potentielle implication rénale) une analyse d'urine complète ou tout chien appartenant à un propriétaire désireux de participer à cette étude a pu être intégré dans cette étude. Les chiens ayant été inclus dans l'étude sont donc à la fois des chiens présentant potentiellement des anomalies de l'analyse d'urine et d'autres dont aucun signe clinique n'indiquait une anomalie de celle-ci.

Les animaux n'ont pu être prélevés que les mardis et mercredis avant 10 h afin de se coordonner avec l'activité du laboratoire

##### *1.1.1.2. Critère d'exclusion*

En ce qui concerne le choix des animaux, aucun critère d'exclusion n'a été déterminé. Toutefois les animaux dont les prélèvements étaient inférieurs à 8 mL ont du être retirés de l'étude par manque de substrat pour les analyses. De même, les chiens dont les urines ont été contaminées lors du prélèvement ou lors d'erreur de manipulation ont également été exclus de l'étude.

Le but de l'étude étant de déterminer l'effet du délai d'analyse des urines, un délai maximal de 2 heures a été imposé entre le prélèvement et l'analyse des urines. Un délai supérieur à cette limite entraîne l'exclusion de l'animal de l'étude.

#### *1.1.1.3. Préparation des chiens sélectionnés*

Durant toute la période d'expérimentation, trois chiens maximum ont été inclus dans l'étude les mardis et mercredis matins avant 10h.

Chaque animal inclus dans l'étude a une fiche d'accompagnement de prélèvement (sur laquelle est inscrit le nom du propriétaire, son nom d'usage, son numéro d'identification ENVT, son numéro d'identification pour l'étude, la raison pour laquelle il est hospitalisé ou vient en consultation ainsi que ses antécédents médicaux urinaires) et une fiche d'analyse (sur laquelle n'est mentionné que son numéro d'étude) visibles en Annexes 2 et 3.

Les chiens ont été identifiés de la façon suivante : «PUMA X », X déterminant le numéro d'inclusion dans l'étude. Les animaux prélevés qui n'ont pas pu être inclus ont gardé leur identification afin d'être répertoriés. Pour préserver l'anonymat, seule l'identification par le numéro de l'étude est présente sur les résultats d'analyses.

Avant collection de l'urine, les voies uro-génitales externes ont été nettoyées soigneusement à l'aide d'un papier mouillé avec de l'eau tiède, que ce soit la vulve pour les femelles ou le pénis extériorisé pour les mâles. Le maximum de poils ou de souillures environnementales est retiré grâce à ce nettoyage.

#### *1.1.1.4. Prélèvement d'urine*

L'urine de chaque chien est prélevée par miction naturelle après nettoyage soigneux des voies uro-génitales externes.

L'urine est récoltée à l'aide d'une barquette (Caissipack®) en limitant le contact avec les poils de l'animal ainsi qu'avec toute autre contamination externe. En cas de contamination majeure entraînant une modification macroscopique, le spécimen est jeté. Un volume minimum total de 6mL d'urine est collecté.

### *1.1.2. Etapes pré-analytiques*

#### *1.1.2.1. Préparation des urines*

Immédiatement après le prélèvement, 2x1mL d'urine sont placés dans deux tubes secs sans additif (Tube BD Vacutainer® sans additif, BD Diagnostics, Le Pont de Claix, France) pour l'analyse bactériologique urinaire. Le tube pour analyse immédiate est alors identifié « PUMA X » suivi de la mention « T0 », tandis que le deuxième tube sec est identifié « PUMA X » suivi de la mention « T0+24h ». Les deux tubes sont ensuite portés au Laboratoire Biolab Avenir accompagnés de l'ordonnance spéciale de bactériologie (Annexe 4).

Par la suite, 3 tubes de 1,5 ml Eppendorf classiques® sont remplis d'urine, préalablement identifiés « PUMA X », suivi de la mention « I » pour analyse immédiate ou de la mention « 4-6 » ou « 22-26 » pour analyse après 4 à 6h ou 22 à 26h après réfrigération.

Les tubes sont identifiés et portés au Laboratoire Central de l'ENVT pour analyse.

#### *1.1.2.2. Délai et conservation entre la collecte et l'analyse*

Les analyses sont effectuées dans deux laboratoires différents. Les cytologies et RPCU sont effectués au laboratoire Central de l'ENVT, les bactériologies sont effectuées au Laboratoire Biolab Avenir.

Un délai maximal de 2h est respecté entre collecte et analyse directe par la Laboratoire Central de l'ENVT.

Les tubes secs destinés à l'analyse bactériologique immédiate sont portés dans un délai de 2h au Laboratoire Biolab Avenir comme habituellement pour un ensemencement immédiat et 24 h après arrivée du prélèvement.

Les spécimens d'urine destinés aux analyses différées sont mis dans un réfrigérateur dont la température est contrôlée et stable à +4°C dans l'heure suivant la collecte.

Pour ce qui est de la bactériologie, les spécimens sont également conservés dans un réfrigérateur dont la température est contrôlée et stable à +4 ° C jusqu'à ensemencement.



### *1.1.2.3. Centrifugation*

Les tubes Eppendorf classiques® remplis d'urine sont centrifugés immédiatement, 4h à 6h après réfrigération ou 22h à 26h après réfrigération. Ils sont centrifugés avec la centrifugeuse ROTOFIX 32A (Andreas Hettich GmbH and Co. KG D- 78532 Tuttlingen) à 1500 tours/min (RCF=250g) pendant 5 minutes (rayon de centrifugation = 10.00 cm ; 13.5 – 3.5 ; référence des godets : 1741). Le surnageant est utilisé pour préparer les spécimens liquides.

### *1.1.2.4. Extraction du surnageant et préparation des spécimens liquides*

L'extraction du surnageant se fait à l'aide de pipettes à usage unique « pastette » (Pipette pasteur plastique pointe fine, Copan, Brescia, Italia). L'extraction du surnageant est effectuée avec précaution afin d'éviter une remise en suspension prématurée du sédiment.

Le surnageant est réparti dans un Eppendorf classique® préalablement identifié « PUMA X », suivi de la mention « I » pour analyse immédiate ou de la mention « 4-6 » ou « 22-26 » pour analyse après 4 à 6h ou 22 à 26h après réfrigération.

### *1.1.2.5. Remise en suspension du sédiment*

Une autre « pastette » est utilisée après l'extraction du surnageant pour la remise en suspension du sédiment du spécimen destiné à l'analyse cytologique.

L'extraction du surnageant et la remise en suspension du sédiment se font au dernier moment, c'est-à-dire immédiatement après remplissage des différents tubes Eppendorf®. La remise en suspension du sédiment est réalisée par une alternance de pressions-dépressions lentes de la pipette plongée dans l'urine résiduelle.

L'horaire de répartition du surnageant est reporté sur la feuille analytique et est assimilé à T0. Le sédiment du spécimen dédié à l'analyse cytologique est remis en suspension avec l'urine résiduelle (0.15mL).

### *1.1.3. Etapes analytiques*

#### *1.1.3.1. Bandelette urinaire*

Une analyse chimique est réalisée pour chaque animal au moyen d'une bandelette urinaire (Multistix 10, Bayer, Siemens). Toutes les plages de réactif de la bandelette sont imbibées une à une au moyen de l'urine native. La bandelette est ensuite égouttée pour éliminer l'excédent d'urine en veillant qu'aucun mélange de réactif n'ait lieu. La lecture a lieu 70s à 110s après imbibition des réactifs. Les résultats donnés par la bandelette sont notés sur la fiche analytique correspondante à l'animal (annexe 3).

#### *1.1.3.2. Densité urinaire*

Une goutte des urines natives est utilisée pour la mesure de la densité urinaire au moyen d'un refractomètre optique Atago T2-NE (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japan), dont l'étalonnage au moyen d'eau distillée est réalisé chaque jour. La valeur obtenue est consignée dans la fiche analytique.

#### *1.1.3.3. Examen cytologique du sédiment*

Une goutte (environ 6  $\mu$ L) du sédiment remis en suspension est transférée sur une lame (lames à bords coupés et à plage dépolie (Thermo Scientific Menzel-Gläser) et recouverte d'une lamelle (lamelles 22 x 22 mm (Menzel-Gläser)).

L'examen cytologique est réalisé au moyen d'un microscope Nikon Eclipse E200 avec les objectifs correspondants : x10, x20, x40. L'intensité lumineuse, la fermeture du diaphragme et la descente du condensateur sont réglés à leur maximum.

##### *1.1.3.3.1. Analyse préliminaire au faible grossissement*

Une première analyse semi-quantitative du spécimen se fait au faible grossissement (10x) dans le but d'apprécier la richesse du prélèvement et la présence éventuelle et la quantification des cristaux et des cylindres. La surface de la lamelle est observée dans son

intégralité en faisant varier la vis micrométrique afin d'effectuer un premier tri entre les éléments d'intérêt (cellules, cristaux, cylindres) et les artéfacts de préparation (bulles, débris de verre, fibres ou poils)

#### 1.1.3.3.2. Analyse au fort grossissement

Dix champs distincts sont sélectionnés en prenant soin d'éviter leur chevauchement afin de ne pas compter plusieurs fois le même élément.

Sur chacun des champs, les éléments d'intérêt sont dénombrés individuellement et relevés dans une colonne du tableau (tableau 3 ci-dessous) qui sert de modèle pour toutes les analyses microscopiques de l'étude. Une moyenne sur les dix champs est effectuée à la fin de l'examen. Cette moyenne M, constituera la donnée brute exploitée par la suite.

La nature des cristaux, cylindres ou bactéries sera précisée si nécessaire.

Eléments comptés	Champ 1	Champ 2	Champ 3	Champ 4	Champ 5	Champ 6	Champ 7	Champ 8	Champ 9	Champ 10
Cristaux (x100)										
Hématie (x400)										
Leucocytes (x 400)										
Cylindres (x100)										
Bactéries										
Spermatozoïdes										
Cellules épithéliales										

**Tableau 3 : Tableau récapitulatif des résultats de cytologie**

#### *1.1.3.3.3. Bactériologie*

Une bactériologie urinaire est effectuée sur les spécimens placés dans les deux tubes secs à T0 et T24h.

#### *1.1.3.4. RPCU*

Le RPCU est déterminé:

- Immédiatement pour les spécimens « PUMA X, I»
- Entre 4h et 6h après réfrigération pour les spécimens « PUMA X, +4, 4-6 »
- Entre 22h et 26h après réfrigération pour les spécimens « PUMA X, +4, 22-26»

Le RPCU est mesuré avec l'analyseur Indiko Plus (ThermoFisher Scientific).

La créatinine urinaire est mesurée par la méthode de Jaffé et les protéines urinaires par la méthode au rouge pyrogallol avec les réactifs de Thermo Scientific.

Les valeurs des protéines et créatinine urinaires sont reportées sur la feuille analytique. Le ratio protéines urinaires / créatinine urinaire (RPCU) est ensuite calculé et sa valeur du RPCU est reportée sur la fiche analytique correspondante.

#### *1.1.4. Contrôle qualité*

L'analyseur « Indiko Plus » est contrôlé chaque jour d'analyse par la personne qui réalise les mesures de RPCU. Les analyses ne sont pas programmées tant que la règle de Westgard  $1_{2s}$  n'est pas respectée pour chaque niveau de contrôle.

## 1.2. Schéma récapitulatif

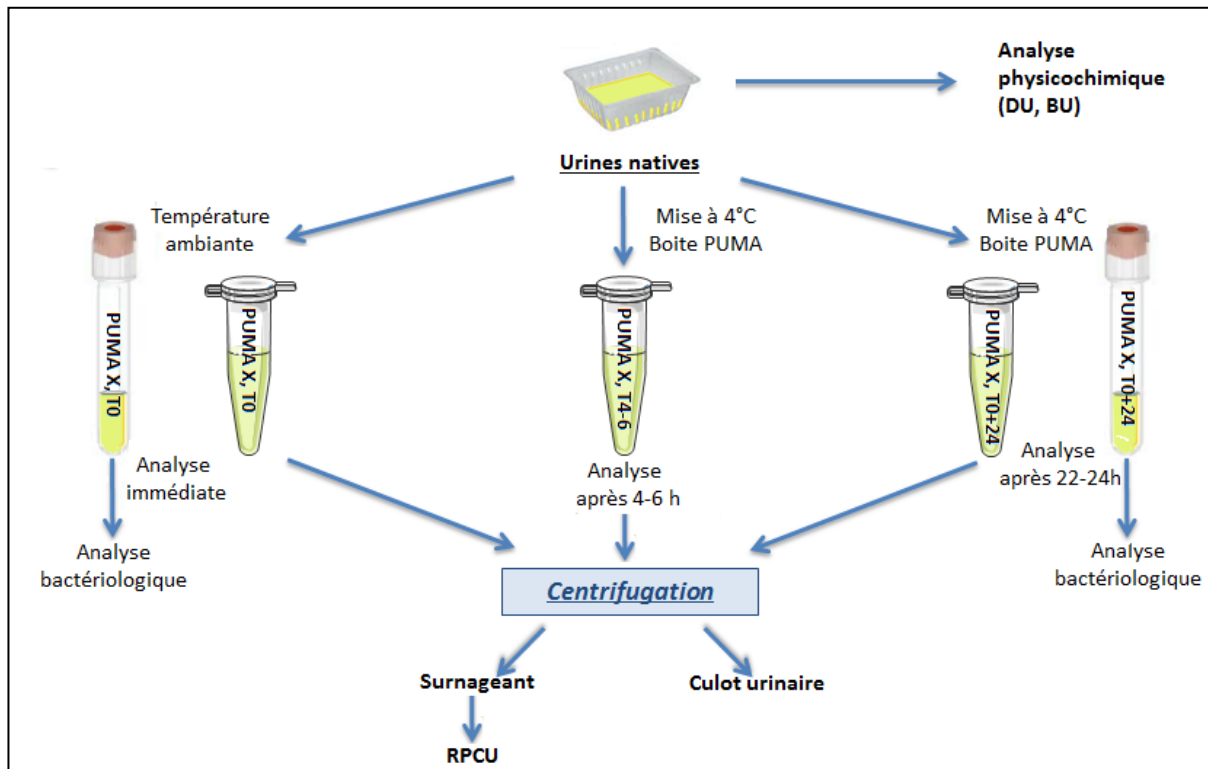


Figure 4 : Schéma récapitulatif de l'expérience

## 1.3. Analyses statistiques

Les résultats ont été traités par le logiciel statistique SYSTAT V13. Les données épidémiologiques ainsi que les résultats ont été décrits, pour les résultats normalement répartis, grâce à leur moyenne associée à leur déviation standard et pour les résultats non normalement répartis, grâce à leur médiane associée à la valeur maximale et minimale de la variable.

## 2. Résultats

### 2.1. Population

#### 2.1.1. Chiens inclus dans l'étude

Soixante chiens ont été inclus dans l'étude relative au RPCU et à la cytologie urinaire sur une période allant du 20/10/2016 au 27/04/2017.

Cinquante-quatre chiens ont été inclus dans l'étude relative à la bactériologie urinaire sur une période allant du 20/10/2016 au 27/04/2017.

Les caractéristiques épidémiologiques de ces animaux ne suivant pas une répartition normale, elles ont été décrites à l'aide de leur médiane associée à leur minimum et maximum.

#### 2.1.1.1. Age des chiens inclus dans l'étude

L'âge des chiens inclus dans l'étude a pour médiane 5,6 ans avec un minimum à 0,17 ans (soit 2 mois) et pour maximum 16,16 ans (soit 16 ans et 2 mois).

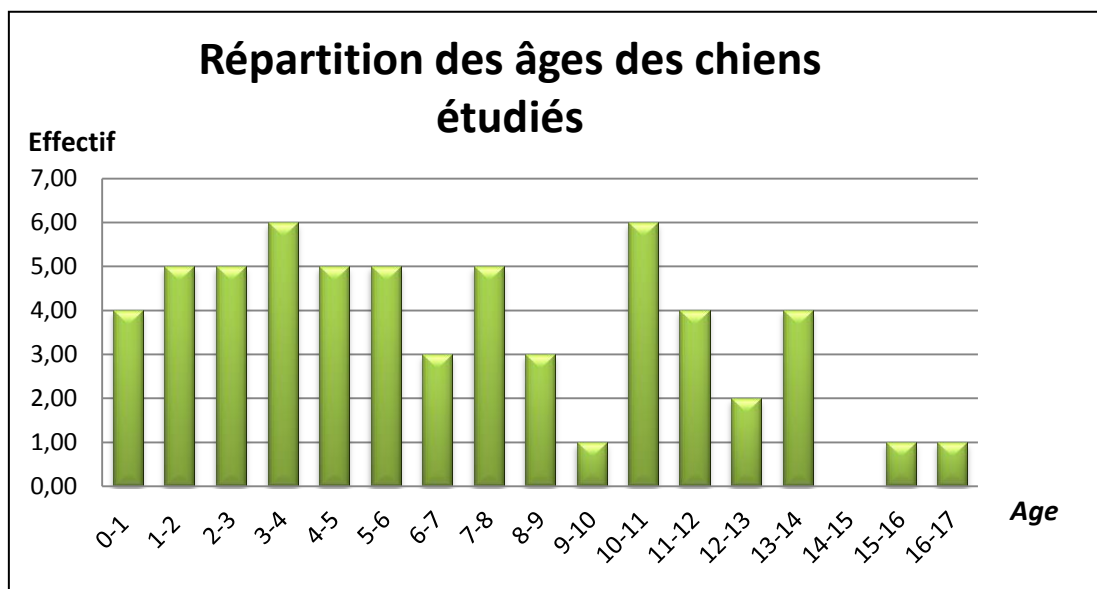


Figure 5 : Répartition des âges des chiens étudiés

### 2.1.1.2. Sexe des chiens inclus dans l'étude

Sur les soixante chiens étudiés, 33 sont des mâles entiers, 11 des femelles stérilisées, 8 des femelles stérilisées et 8 des mâles castrés.

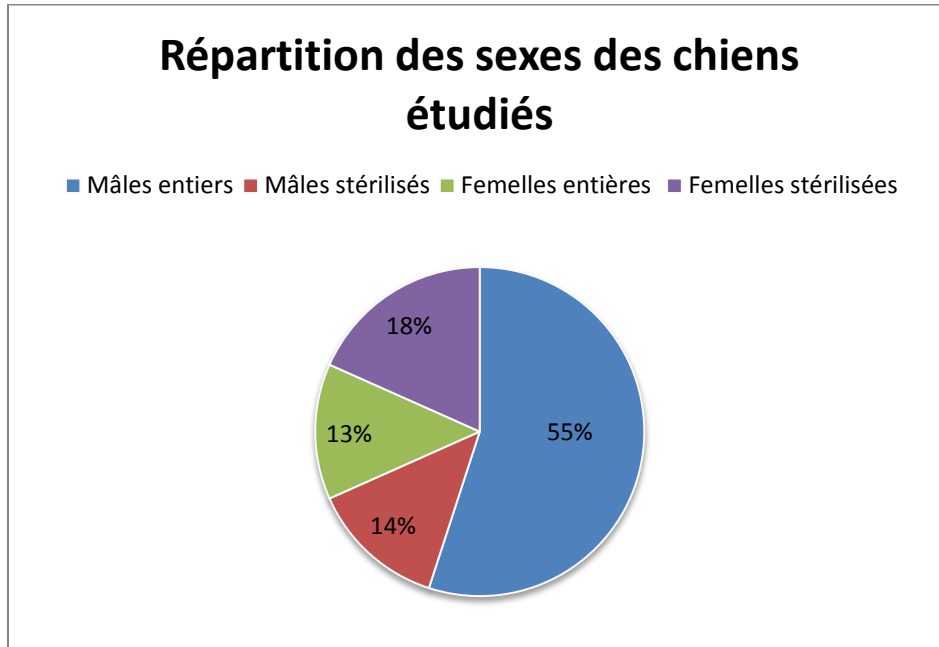


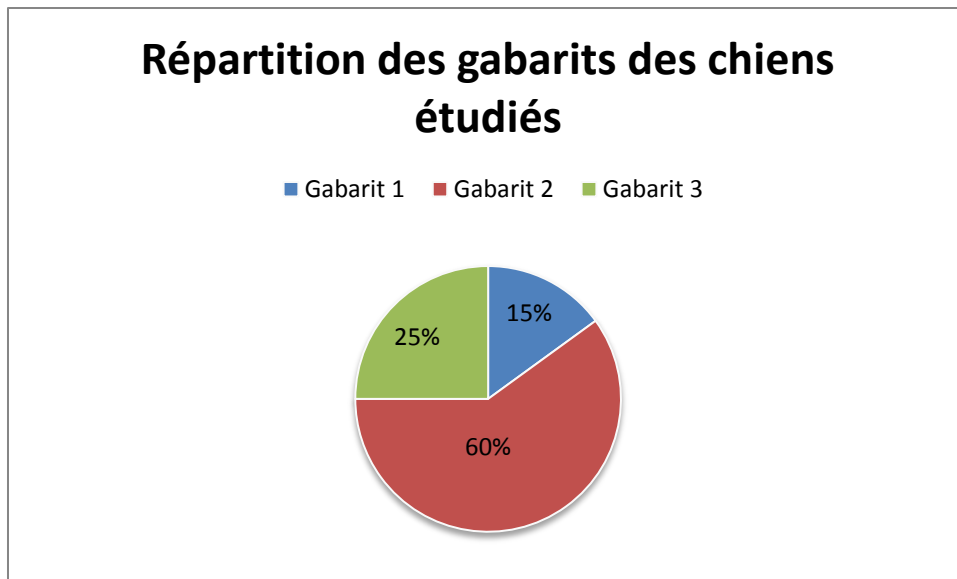
Figure 6 : Répartition des sexes des chiens étudiés

### 2.1.1.3. Gabarit des chiens inclus dans l'étude

Les chiens sont répartis en trois types de gabarits :

- Le gabarit 1 correspond aux chiens de moins de 10 kg
- Le gabarit 2 correspond aux chiens dont le poids est entre 10 et 30 kg
- Le gabarit 3 correspond aux chiens de plus de 30 kg

Sur les soixante chiens étudiés, 9 chiens appartiennent au gabarit 1, 36 appartiennent au gabarit 2 et 15 au gabarit 3.



**Figure 7 : Répartition des gabarits des chiens étudiés**

Parmi les 9 chiens du gabarit 1, 3 sont des femelles entières, 5 des mâles entiers et 1 chienne stérilisée.

Parmi les 36 chiens de gabarit 2, 17 sont des mâles entiers, 9 sont des femelles stérilisées, 6 sont des mâles stérilisés, et 4 sont des femelles entières.

Parmi les 15 chiens de gabarit 3, 11 chiens sont des mâles entiers, 2 chiens sont des mâles stérilisés, 1 est une chienne entière et 1 est une chienne stérilisée.

#### 2.1.1.4. Affection des chiens inclus dans l'étude

Parmi les 60 chiens inclus dans l'étude, 3 étaient volontaires et à priori sains et les 57 autres étaient hospitalisés au service de médecine interne, d'urgence et soins intensifs, de chirurgie ou d'ophtalmologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Parmi ces 57 chiens malades, 13 présentaient des affections du tractus uro-génital et 44 ne présentaient pas à priori d'affections uro-génitales.

Chez ces 13 chiens, 2 animaux présentaient des troubles uro-génitaux d'origine infectieuse, 5 chiens présentaient des calculs, 5 chiens présentaient des néphropathies et 1 chien présentait un trouble uro-génital d'origine idiopathique.



<b>Origine du trouble</b>	<b>Effectif</b>	<b>Affections</b>
<b>Calculs</b>	5	Calculs vésicaux (2) Calculs pyéliqués Calculs urétéraux (2)
<b>Néphropathie</b>	5	Syndrome néphrotique (2) Glomérulopathie Maladie rénale chronique (2)
<b>Infectieuse</b>	2	Pyomètre Leptospirose
<b>Idiopathique</b>	1	Hématurie essentielle

**Tableau 4 : Répartition des troubles uro -génétaux des animaux atteints**

Parmi les 44 chiens qui ne présentaient pas de troubles uro-génétaux, 10 ont été présentés pour des plaies, des traumatismes, 6 présentaient des affections tumorales, 5 des affections ostéo-articulaires, 6 des maladies infectieuses, 5 des maladies endocriniennes, 4 des affections inflammatoires chroniques, 2 des affections conformationnelles, 2 des affections neurologiques, 2 des affections ophtalmologiques et 2 des affections auto-immunes

<b>Origine</b>	<b>Effectif</b>	<b>Affection</b>
<b>Traumatisme</b>	10	Plaie de morsure (4) Abscess (2) AVP (2) Envenimation chenilles processionnaires (2)
<b>Tumorale</b>	6	Mastocytome (3) Sarcome (2) Chondrosarcome nasal
<b>Infectieuse</b>	6	Entérite (2) Cholangiohépatite Cholécystites Strongyloïdose Piroplasmose
<b>Ostéo-articulaire</b>	5	Arrachement des ligaments croisés Dysplasie coudes Luxation rotule Fractures Polyarthrite
<b>Endocriniennes</b>	5	Diabète sucré (3) Syndrome de Cushing (2)
<b>Inflammatoire chronique</b>	4	Entéropathie exsudative (3) Rhinite chronique
<b>Conformationnelles</b>	2	Déformation chanfrein Radius curvus
<b>Neurologiques</b>	2	Epilepsie essentielle (2)
<b>Ophtalmologique</b>	2	Cataracte bilatérale (2)
<b>Auto-immune</b>	2	Anémie hémolytique à médiation immune (2)

**Tableau 5 : Répartition des troubles non uro-génitaux des animaux malades**

### *2.1.2. Chiens exclus de l'étude*

Deux animaux ont été retirés de l'étude globale lors du déroulement de celle-ci.

Le premier PUMA 22 a été retiré de l'étude car la quantité d'urine récoltée par miction spontanée était inférieure à 8 mL, celle-ci n'étant pas suffisamment importante pour effectuer l'analyse complète.

Le second PUMA 55 a été retiré de l'étude car le délai nécessaire à l'acheminement au laboratoire central de l'ENVT était supérieur au délai préalablement déterminé dans le protocole (2 heures).

Quatre autres chiens ont été retirés partiellement de l'étude, au vu de l'absence de résultats de la bactériologie du laboratoire Biolab Avenir. Celle-ci est due pour certains animaux à un délai d'acheminement trop important (supérieur à 2 heures) et pour d'autres à l'absence totale de résultats par perte des prélèvements. Les chiens concernés sont PUMA 50, PUMA 52, PUMA 59 et PUMA 60.

Ces animaux n'ont toutefois pas été écartés de l'étude du RPCU et de la cytologie urinaire, les prélèvements ayant été acheminés dans les temps au laboratoire central de l'ENVT.

## **2.2. Résultats de l'analyse d'urine**

### **2.2.1. Résultats de l'analyse d'urine à T0**

#### **2.2.1.1. Densité urinaire**

<b>Variable</b>	<b>Unité</b>	<b>Médiane</b>	<b>Minimum-Maximum</b>
<b>Densité urinaire</b>	-	1.024	1.000 – 1.050

**Tableau 6 : Répartition des résultats de densité urinaire à T0**

A T0 la densité urinaire a pour médiane 1.024 avec pour minimum 1.000 et pour maximum 1.050.

#### 2.2.1.2. *Bandelette*

##### 2.2.1.2.1. *pH*

Le pH obtenu à l'aide des bandelettes colorimétriques a pour médiane 6.75 avec pour minimum 5 et pour maximum 8.

##### 2.2.1.2.2. *Glucose*

Parmi les 60 chiens testés, 54 ne présentaient pas de croix de glucose à la bandelette urinaire, 3 en avaient une, 0 en avaient 2 et 3 en avaient 3.

##### 2.2.1.2.3. *Bilirubine*

Parmi les 60 chiens testés, 47 n'avaient pas de croix de bilirubine à la bandelette urinaire, 7 avaient une croix, 2 avaient deux croix et 4 avaient 3 croix.

##### 2.2.1.2.4. *Corps cétoniques*

Parmi les 60 chiens testés, aucun n'avaient de croix de corps cétoniques à la bandelette urinaire.

##### 2.2.1.2.5. *Sang*

Parmi les 60 chiens testés, 51 n'avaient pas de croix de sang à la bandelette urinaire, 2 avaient une croix de sang, 2 avaient 2 croix de sang, 1 avait 3 croix de sang, et 4 avaient 4 croix de sang.

#### 2.2.1.2.6. Protéine

Parmi les 60 chiens testés, 15 n'avaient pas de croix de protéine à la bandelette urinaire, 30 avaient une croix de protéine, 5 avaient 2 croix de protéine et 9 avaient 3 croix de protéine.

#### 2.2.1.2.7. Urobilirubine

Parmi les 60 chiens testés, 59 n'avaient pas de croix d'urobilirubine, et 1 avait 1 croix d'urobilirubine.

#### 2.2.1.2.8. Nitrite

Parmi les 60 chiens, aucun n'avait de croix de nitrite.

#### 2.2.1.2.9. Leucocytes

Parmi les 60 chiens testés, 55 ne présentaient pas de croix de leucocytes à la bandelette urinaire, 0 avait 1 croix de leucocyte, 2 avaient 2 croix et 3 avaient 3 croix.

#### 2.2.1.3. Créatininurie / Protéinurie / RPCU / Stade IRIS

Les résultats de la créatininurie, de la protéinurie et du RPCU à T0 sont retranscrits dans le tableau suivant.

<b>Variable</b>	<b>Unité</b>	<b>Médiane</b>	<b>Minimum – Maximum</b>
<b>Protéinurie</b>	mg/L	121.00	10.000 - 5433.0
<b>Créatininurie</b>	mg/L	981.55	169.80 - 4893.5
<b>RPCU</b>	-	0.12	0.01 - 12.1

Tableau 7 : Répartition des résultats de la protéinurie, de la créatininurie et du RPCU à T0

En ce qui concerne les stades IRIS, sur les 60 chiens étudiés, 39 étaient de stade IRIS NP (non protéinurique), 6 de stade BP (border line) et 15 de stade P (protéinurique).

Les résultats de la créatininurie, de la protéinurie et du RPCU à T0 en fonction du stade IRIS sont retranscrits dans le tableau suivant.

Variable	Unité	Médiane NP	Minimum NP- Maximum NP	Médiane BP	Minimum BP- Maximum BP	Médiane P	Maximum P – Minimum P
<b>Protéinurie</b>	mg/L	80.00	10.00 – 297.00	301.50	153.00 – 1037.0	2496.0	915.00 – 5433.0
<b>Créatininurie</b>	mg/L	985.10	169.80 – 3996.5	959.50	555.20 – 4893.5	1052.6	194.60 – 3072.4
<b>RPCU</b>	-	0.07	0.01 – 0.18	0.31	0.21 – 0.45	2.36	1.15 – 12.14

**Tableau 8 : Répartition des résultats de la protéinurie, de la créatininurie et du RPCU à T0 en fonction du stade IRIS**

#### 2.2.1.4. Cytologie urinaire

Le tableau suivant présente la répartition des moyennes des différents éléments recherchés à la cytologie urinaire à T0.

<b>Variable</b>	<b>Unité</b>	<b>Médiane</b>	<b>Minimum-Maximum</b>
<b>Leucocytes</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0.5	0-50
<b>Globules rouges</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0.2	0-300
<b>Cristaux</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-50
<b>Cylindres</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-50
<b>Bactéries</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-20
<b>Spermatozoïdes</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-20
<b>Cellules épithéliales</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-20

**Tableau 9 : Répartition des résultats de la cytologie urinaire à T0**

Parmi les 60 animaux étudiés, 52 n'avaient aucun cristal de struvite repéré à la cytologie urinaire à T0 et 8 en avaient.

De même, 59 n'avaient pas de cristaux d'Oxalate de Calcium à T0 et un seul en présentaient.

Enfin, 58 animaux ne présentaient pas d'autres cristaux (type bilirubine) à T0, et 2 en présentaient.

#### *2.2.1.5. Croissance bactérienne*

Une distinction a été effectuée entre les animaux dont la bactériologie urinaire a mis en évidence une quelconque croissance bactérienne, c'est à dire avec une bactériurie strictement supérieure à 0 UFC /mL et les animaux atteints d'une infection urinaire, c'est-à-dire ceux dont la bactériurie est supérieure ou égale à 100 000 UFC/mL.

### 2.2.1.5.1. Culture bactérienne

Parmi les 56 chiens ayant bénéficié d'une bactériologie urinaire, 18 avaient une croissance bactérienne urinaire à T0 et 38 n'en avaient pas.

Le tableau suivant répertorie les souches isolées ainsi que les différents effectifs de bactériologie.

Quantité isolée en UFC/ mL	Effectif	Germes isolés
100	1	- Streptococcus canis
1 000	4	- Streptococcus canis (x2) - Staphylococcus pseudointermedius - Staphylococcus epidermidis
10 000	4	- Streptococcus canis - Pseudomonas aeruginosa - Escherichia coli / Staphylococcus pseudointermedius - Escherichia coli / Enterobacter aerogenes
100 000	5	- Staphylococcus intermedius / Streptococcus canis - Escherichia coli / Pseudomonas aeruginosa - Staphylococcus pseudointermedius - Enterococcus faecalis / Staphylococcus pseudointermedius - Escherichia coli / Enterococcus faecalis
1 000 000	3	- Enterobacter cloacae / Streptococcus canis - Streptococcus canis / Escherichia coli / Tuerperella abotisuis - Escherichia coli
100 000 000	1	- Staphylococcus intermedius

Tableau 10 : Répartition du comptage bactériologique ainsi que des souches isolées à T0



#### 2.2.1.5.2. Infection bactérienne

Parmi les 56 chiens qui ont eu une bactériologie urinaire, 47 n'avaient pas d'infection urinaire et 9 avaient une infection urinaire active.

Le tableau suivant répertorie les différents cas d'infection bactérienne avec la population isolée ainsi que leur comptage.

Quantité isolée en UFC/ mL	Effectif	Germes isolés
100 000	5	- Staphylococcus intermedius - Staphylococcus pseudointermedius - Enterococcus faecalis - Escherichia coli - Escherichia coli / Enterococcus faecalis
1 000 000	3	- Streptococcus canis - Escherichia coli - Enterobacter cloacae / Streptococcus canis
100 000 000	1	Staphylococcus intermedius

Tableau 11 : Répartition des comptages bactériologiques et des souches bactériennes isolées lors d'infection du tractus urinaire à T0

#### 2.2.1.6. Délai entre collecte d'urine et analyse cytologique

Le délai entre la collecte des urines et l'analyse cytologique a pour médiane 30 minutes et a pour minimum 10 minutes et pour maximum 90 minutes (1heure 30 minutes).

## 2.2.2. Résultats de l'analyse d'urine à T4

### 2.2.2.1. Créatininurie / Protéinurie / RPCU / Stade IRIS

Les résultats de la créatininurie, de la protéinurie et du RPCU à T4 sont retranscrits dans le tableau suivant.

Variable	Unité	Médiane	Minimum – Maximum
<b>Protéinurie</b>	mg/L	128.00	11.000 - 5436.0
<b>Créatininurie</b>	mg/L	975.95	165.90 - 4803.3
<b>RPCU</b>	-	0.12	0.03 - 11.9

**Tableau 12 : Répartition des résultats de protéinurie, créatininurie et RPCU à T4**

En ce qui concerne les stades IRIS, sur les 60 chiens étudiés, 39 étaient de stade IRIS NP (non protéinurique), 6 étaient de stade BP (border line) et 15 étaient de stade P (protéinurique).

Les résultats de la créatininurie, de la protéinurie et du RPCU à T4 en fonction du stade IRIS sont retranscrits dans le tableau suivant.

Variable	Unité	Médiane NP	Minimum NP- Maximum NP	Médiane BP	Minimum BP- Maximum BP	Médiane P	Maximum P – Minimum P
<b>Protéinurie</b>	mg/L	84.00	11.00 – 294.00	301.50	153.00 – 1037.0	2531.0	924.00 – 5436.0
<b>Créatininurie</b>	mg/L	972.20	165.90 – 4055.1	951.90	563.60 – 4803.3	1072.0	204.00 – 3066.1
<b>RPCU</b>	-	0.08	0.03 – 0.19	0.32	0.20 – 0.43	2.36	1.11 – 11.9

**Tableau 13 : Répartition des résultats de protéinurie, créatininurie et RPCU à T4 en fonction du stade IRIS**

### 2.2.2.2. Cytologie urinaire

Le tableau suivant présente la répartition des moyennes des différents éléments recherchés à la cytologie urinaire à T4.

<b>Variable</b>	<b>Unité</b>	<b>Médiane</b>	<b>Minimum-Maximum</b>
<b>Leucocytes</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0.5	0-50
<b>Globules rouges</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0.2	0-300
<b>Cristaux</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-50
<b>Cylindres</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-50
<b>Bactéries</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-20
<b>Spermatozoïdes</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-20
<b>Cellules épithéliales</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-20

**Tableau 14 : Répartition des résultats de cytologie à T4**

Parmi les 60 animaux étudiés, 52 n'avaient aucun cristal de struvite repéré à la cytologie urinaire à T4 et 8 en avaient.

De même, 58 n'avaient pas de cristaux d'Oxalate de Calcium à T4 et 2 en présentaient.

Enfin, aucun animal ne présentait d'autres types de cristaux (type bilirubine) à T4.

### 2.2.3. Résultats de l'analyse d'urine à T24

#### 2.2.3.1. Créatininurie / Protéinurie / RPCU / Stade IRIS

Les résultats de la créatininurie, de la protéinurie et du RPCU à T24 sont retranscrits dans le tableau suivant.

<b>Variable</b>	<b>Unité</b>	<b>Médiane</b>	<b>Minimum – Maximum</b>
<b>Protéinurie</b>	mg/L	126.50	9.0000 - 5446.0
<b>Créatininurie</b>	mg/L	979.2	166.40 – 4694.4
<b>RPCU</b>	-	0.13	0.03 – 12.1

**Tableau 15 : Répartition des résultats de protéinurie, créatininurie et RPCU à T24**

En ce qui concerne les stades IRIS, sur les 60 chiens étudiés, 39 étaient de stade IRIS NP (non protéinurique), 6 étaient de stade BP (border line) et 15 étaient de stade P (protéinurique).

#### 2.2.3.2. Cytologie urinaire

Le tableau suivant présente la répartition des moyennes des différents éléments recherchés à la cytologie urinaire à T24.

<b>Variable</b>	<b>Unité</b>	<b>Médiane</b>	<b>Minimum- Maximum</b>
<b>Leucocytes</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0.45	0-50
<b>Globules rouges</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0.1	0-300
<b>Cristaux</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-50
<b>Cylindres</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-50
<b>Bactéries</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-20
<b>Spermatozoïdes</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-20
<b>Cellules épithéliales</b>	Unités par champs, moyenne sur 10 champs	0	0-20

**Tableau 16 : Répartition des résultats de cytologie à T24**

Parmi les 60 animaux étudiés, 52 n'avaient aucun cristal de struvite repéré à la cytologie urinaire à T24 et 8 en avaient.

De même, 57 n'avaient pas de cristaux d'Oxalate de Calcium à T24 et 3 en présentaient.

Enfin, aucun animal ne présentait d'autres types de cristaux (type bilirubine) à T24.

### 2.2.3.3. *Culture bactérienne*

#### 2.2.3.3.1. *Croissance bactérienne*

Parmi les 56 chiens qui ont bénéficié d'une bactériologie urinaire, 22 présentaient une croissance bactérienne positive à T24 et 34 n'en présentaient pas.

Le tableau suivant répertorie les souches isolées, leur comptage et leur répartition.

<b>Quantité isolée en UFC/ mL</b>	<b>Effectif</b>	<b>Germes isolés</b>
<b>100</b>	2	- Streptococcus canis - Escherichia coli / Staphylococcus pseudointermedius
<b>1000</b>	6	- Escherichia coli - Pseudomonas aeruginosa - Streptococcus canis - Streptococcus canis / Tuerpela abortus - Staphylococcus pseudointermedius / Enterococcus faecalis - Enterococcus faecalis / Escherichia coli
<b>10 000</b>	8	- Streptococcus canis - Escherichia coli / Staphylococcus pseudointermedius - Escherichia coli - Escherichia coli / Streptococcus canis - Escherichia coli / Enterobacter faecalis / Streptococcus milleri - Tuerpela abortus / Escherichia coli - Escherichia coli / Enterobacter aerogenes - Enterococcus faecalis / Pseudomonas aeruginosa
<b>100 000</b>	1	Pseudomonas aeruginosa / Escherichia coli
<b>1 000 000</b>	3	- Pseudomonas spp - Streptococcus canis / Klebsiella pneumoniae - Moraxella osloensis / Micrococcus luteus
<b>10 000 000</b>	1	Escherichia coli / Streptococcus canis
<b>100 000 000</b>	1	Staphylococcus intermedius

**Tableau 17: Répartition du comptage bactériologique ainsi que des souches isolées à T24**

### 2.2.3.3.2. Infection bactérienne

Parmi les 56 chiens qui ont bénéficié d'une bactériologie urinaire, 50 n'avaient pas d'infection urinaire à T24 et 6 avaient une infection urinaire active.

Le tableau suivant répertorie les différents cas d'infection bactérienne avec la population isolée ainsi que leur comptage.

Quantité isolée en UFC/ mL	Effectif	Germes isolés
100 000	1	- Pseudomonas aeruginosa / Escherichia coli
1 000 000	3	- Pseudomonas spp - Streptococcus canis / Klebsiella pneumoniae - Moraxella osloensis / Micrococcus luteus
10 000 000	1	- Escherichia coli / Streptococcus canis
1 000 000	1	- Staphylococcus intermedius

Tableau 18 : Répartition des comptages bactériologiques et des souches bactériennes isolées lors d'infection du tractus urinaire à T24

### 2.3. Influence démographique sur l'analyse d'urine

L'influence des variables démographiques et du délai écoulé entre la collecte et l'analyse d'urine sur les variables quantitatives a été étudié au moyen d'un modèle général linéaire.

L'influence des variables démographiques et du délai écoulé entre la collecte et l'analyse d'urine sur les variables qualitatives a été étudié au moyen d'une régression logistique binomiale ou multinomiale.

### 2.3.1. *RPCU*

Le RPCU ne dépend pas de l'âge du chien ( $p=0.2703$ ), ni du sexe ( $p=0.5701$ ) ni du gabarit ( $p=0.7973$ ).

Il ne dépend pas non plus du délai entre la collecte de l'urine et l'analyse ( $p=0.6415$ ).

### 2.3.2. *Densité urinaire*

La densité urinaire ne dépend pas de l'âge du chien ( $p=0.1165$ ), ni du sexe ( $p=0.4457$ ) ni du délai entre la collecte de l'urine et l'analyse ( $p=0.4366$ ).

Elle ne dépend pas non plus du gabarit du chien même si la pvalue est proche de 0.05 ( $p=0.0712$ ).

### 2.3.3. *Cytologie urinaire*

#### 2.3.3.1. *Cristallurie*

La moyenne de cristaux observés par champ ne dépend pas de l'âge de l'animal ( $p=0.2210$ ), ni du sexe ( $p=0.7816$ ), ni du délai entre la collecte de l'urine et l'analyse ( $p=0.8189$ ).

Elle ne dépend pas non plus du gabarit du chien même si la P value est proche de 0.05 ( $p=0.0638$ ).

De même la présence ou non de cristaux de struvites ne dépend pas de l'âge de l'animal, ni du délai entre la collecte et l'analyse cytologique de l'urine. Les valeurs de p values sont disponibles en annexe 5.

En ce qui concerne le gabarit, son rôle dans la présence de struvite n'a pas pu être calculé ( $p=0$ ) du fait du manque d'effectif.

La présence de cristaux d'oxalate de calcium ne dépend ni de l'âge, ni du gabarit de l'animal ni du délai entre la collecte et l'analyse cytologique de l'urine. Les valeurs de p values sont rapportées en annexe 6.



#### 2.3.3.2. *Hématurie*

La moyenne de globules rouges observés par champ ne dépend pas de l'âge du chien ( $p=0.9512$ ), ni du sexe ( $p=0.8660$ ) ni du gabarit ( $p=0.4783$ ).

Elle ne dépend pas non plus du délai entre la collecte de l'urine et l'analyse ( $p=0.4798$ ).

#### 2.3.3.3. *Pyurie*

La moyenne de globules blancs observés par champ ne dépend pas de l'âge du chien ( $p=0.3594$ ), ni du sexe ( $p=0.2704$ ) ni du gabarit ( $p=0.6227$ ).

Elle ne dépend pas non plus du délai entre la collecte de l'urine et l'analyse ( $p=0.8521$ ).

#### 2.3.3.4. *Cylindrurie*

La moyenne de cylindres observés par champ ne dépend pas de l'âge de l'animal ( $p=0.02220$ ), ni du sexe ( $p=0.7835$ ), ni du délai entre la collecte de l'urine et l'analyse ( $p=0.6944$ ).

Elle ne dépend pas non plus du gabarit du chien même si la P value est proche de 0.05 ( $p=0.0526$ ).

#### 2.3.3.5. *Bactériurie*

La moyenne de bactéries observées par champ ne dépend pas du sexe de l'animal ( $p=0.2748$ ) ni du délai entre la collecte de l'urine et l'analyse ( $p=0.8946$ ).

En revanche, elle dépend de l'âge de l'animal ( $p=0.0025$ ), plus l'animal est âgé, plus la bactériurie à la cytologie urinaire est importante. Le chien a par an 0.28 fois plus de chance d'avoir des bactéries à la cytologie urinaire.

De même, elle dépend du gabarit de l'animal ( $p=0.0339$ ), plus l'animal est petit plus la bactériurie à la cytologie urinaire est importante. Les animaux ont 1.6257 fois plus de chance d'avoir une bactériurie observée à la cytologie urinaire s'ils appartiennent au groupe de gabarit 1.

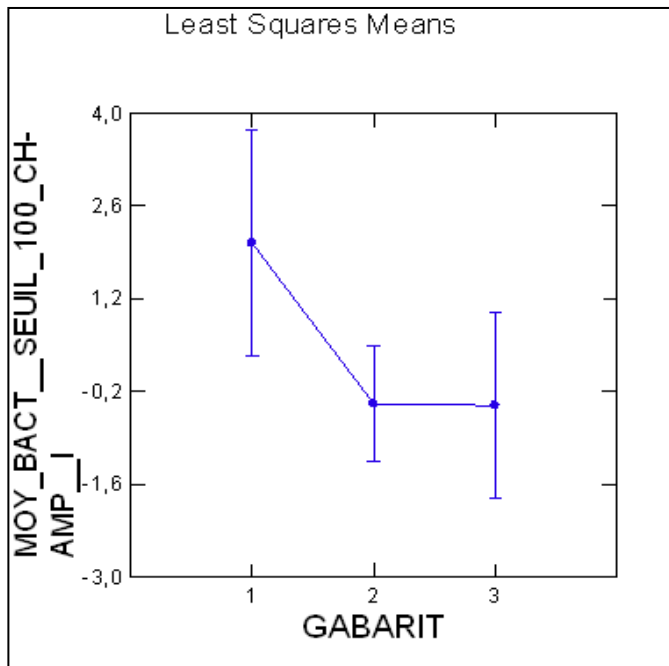


Figure 8 : Répartition de la moyenne des bactéries isolées à la cytologie urinaire en fonction du gabarit

#### 2.3.3.6. *Présence de cellules épithéliales*

La moyenne de cellules épithéliales observées par champ ne dépend pas de l'âge du chien ( $p=0.1343$ ), ni du sexe ( $p=0.3753$ ) ni du gabarit ( $p=0.9966$ ).

Elle ne dépend pas non plus du délai entre la collecte de l'urine et l'analyse ( $p=0.0797$ ).

#### 2.3.4. *Bandelette urinaire*

##### 2.3.4.1. *pH*

Le pH observé à la bandelette urinaire ne dépend pas de l'âge du chien ( $p=0.2160$ ), ni du sexe ( $p=0.2688$ ) ni du gabarit ( $p=0.6623$ ).

Elle ne dépend pas non plus du délai entre la collecte de l'urine et l'analyse ( $p=0.7444$ ).

##### 2.3.4.2. *Glucose*

Quels que soient les niveaux de concentration en glucose (0, 1, 2, 3 ou 4 croix), cette concentration ne dépend ni de l'âge, ni du sexe, ni du gabarit de l'animal, ni du délai entre la collecte et la réalisation de la bandelette ( $p>0.05$ ). Les p values sont données pour chaque paramètre en annexe 7.

##### 2.3.4.3. *Bilirubine*

Quels que soient les niveaux de concentration en bilirubine (0, 1, 2 ou 3 croix), cette concentration ne dépend ni de l'âge, ni du sexe, ni du gabarit de l'animal, ni du délai entre la collecte et la réalisation de la bandelette ( $p>0.05$ ). Les p values sont données pour chaque paramètre en annexe 8. Les valeurs de p value égales à 0 ne sont pas interprétables par manque d'effectif.

##### 2.3.4.4. *Sang*

Quels que soient les niveaux de concentration en sang (0, 1, 2,3 ou 4 croix), cette concentration ne dépend ni de l'âge, ni du sexe, ni du gabarit de l'animal, ni du délai entre la collecte et la réalisation de la bandelette ( $p>0.05$ ). Les p values sont données pour chaque paramètre en annexe 9.

#### 2.3.4.5. *Protéine*

Quels que soient les niveaux de concentration en protéine (0, 1, 2 ou 3 croix), cette concentration ne dépend ni du sexe, ni du gabarit de l'animal, ni du délai entre la collecte et la réalisation de la bandelette ( $p > 0.05$ ). Les p values sont données pour chaque paramètre en annexe 10.

En ce qui concerne l'âge, il semblerait que la concentration en protéine dépend de l'âge de l'animal pour les concentrations à 2 croix de protéine ( $p = 0.0249$ ) et à 3 croix de protéine ( $p = 0.0982$ ). Plus l'animal est âgé plus il a de chance d'avoir 2 à 3 croix de protéines à la bandelette urinaire.

Toutefois pour une concentration à une croix de protéine celle-ci ne semble pas dépendre de l'âge ( $p = 0.2925$ ).

#### 2.3.4.6. *Leucocyte*

Quels que soient les niveaux de concentration en leucocyte (0, 2, ou 3 croix), cette concentration ne dépend ni de l'âge, ni du sexe, ni du gabarit de l'animal, ni du délai entre la collecte et la réalisation de la bandelette ( $p > 0.05$ ). Les p values sont données pour chaque paramètre en annexe 11.

#### 2.3.5. *Bactériologie urinaire*

La présence d'infection urinaire à la bactériologie urinaire ne dépend ni du sexe, ni du gabarit de l'animal ni du délai entre la collecte et l'analyse bactériologique. Les valeurs des p values sont rapportées dans l'annexe 12.

Toutefois l'âge de l'animal a un impact sur la présence d'une infection urinaire ( $p = 0.0177$ ). Pour chaque année supplémentaire, la probabilité d'avoir une infection urinaire est multipliée par 1.35.

## 2.4. Influence du temps d'analyse

Comme précédemment, l'influence du temps d'analyse sur les variables quantitatives, a été étudiée au moyen d'un modèle général linéaire.

De même, l'influence du temps d'analyse sur les variables qualitatives a été étudiée au moyen d'une régression logistique binomiale ou multinomiale.

### 2.4.1. RPCU et Stade IRIS

Le RPCU de l'animal ne dépend pas du temps d'analyse ( $p=0.9976$ ). Que ce soit 4 heures ou 24 heures après la collecte, il est significativement identique au RPCU déterminé au moment de la collecte d'urine. De même le stade IRIS ne dépend pas du temps d'analyse ( $p=1.0000$ ).

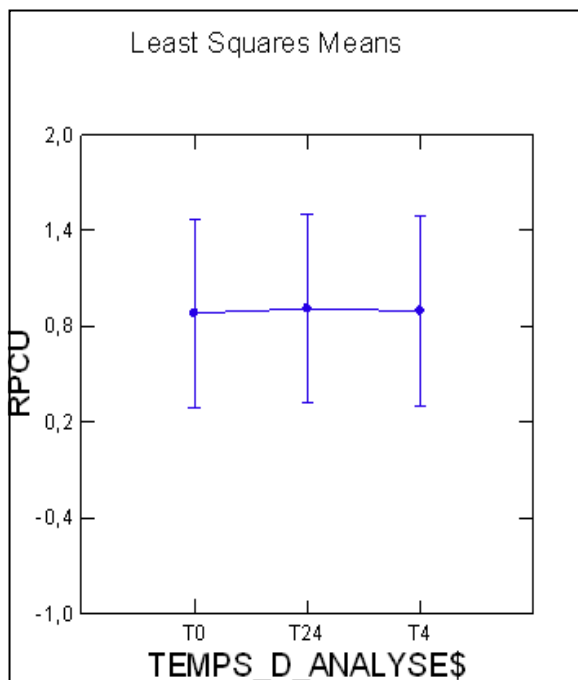
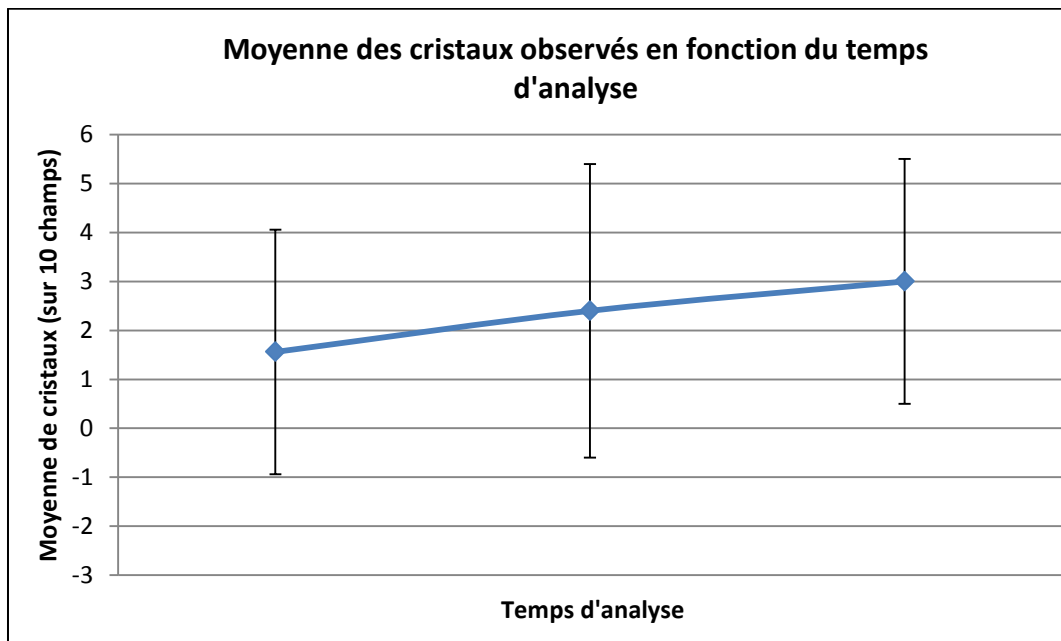


Figure 9 : Répartition du RPCU en fonction du temps d'analyse

## 2.4.2. Cytologie urinaire

### 2.4.2.1. Cristallurie

La moyenne de cristaux observés à la cytologie urinaire ne dépend pas du temps ( $p=0.5765$ ).



**Figure 10 : Répartition des moyennes de cristaux observés en fonction du temps d'analyse**

Même si la moyenne des cristaux augmente avec le temps d'analyse, cette différence n'est pas significative.

De même, la présence ou non de cristaux de struvites à la cytologie urinaire ne dépend pas du temps d'analyse ( $p=0.9739$  pour T0, et  $p=0.9738$  pour T24).

Enfin la présence ou non de cristaux d'oxalate de calcium à la cytologie urinaire ne dépend pas du temps d'analyse ( $p=0.5676$  pour T0 et  $p=0.6518$  pour T24).

#### 2.4.2.2. *Hématurie*

La moyenne de globules rouges observés à la cytologie urinaire ne dépend pas du temps d'analyse ( $p=1.000$ ).

#### 2.4.2.3. *Pyurie*

La moyenne de globules blancs observés à la cytologie urinaire ne dépend pas du temps d'analyse ( $p=0.9867$ ).

#### 2.4.2.4. *Cylindrurie*

La moyenne de cylindres observés à la cytologie urinaire ne dépend pas du temps d'analyse ( $p=0.9999$ ).

#### 2.4.2.5. *Bactériurie*

La moyenne de bactéries observées à la cytologie urinaire ne dépend pas du temps d'analyse ( $p=1.0000$ ).

#### 2.4.2.6. *Spermaturie*

La moyenne de spermatozoïdes observés à la cytologie urinaire ne dépend pas du temps d'analyse ( $p=0.9631$ ).

#### 2.4.2.7. *Présence de cellules épithéliales à la cytologie*

La moyenne de cellules épithéliales observées à la cytologie urinaire ne dépend pas du temps d'analyse (p=0.9531)

#### 2.4.3. *Bactériologie urinaire*

La présence d'une croissance bactérienne à la bactériologie urinaire ne dépend pas du temps d'analyse (p=0.3865)

La présence d'une infection urinaire ne dépend pas du temps d'analyse (p=0.3851).

Parmi les résultats supérieurs à 100 000 UFC / mL à T0, c'est-à-dire les chiens atteints d'une infection du tractus urinaire, certains chiens ont vu leur résultats de bactériologie urinaire évoluer, en isolant parfois des souches différentes à T24. L'évolution des bactériologies urinaires des chiens diagnostiqués comme atteints d'une infection urinaire à T0 est présentée dans le tableau suivant.



Numéro d'étude	Souche isolée à T0	Quantification de la souche isolée (en UFC /mL)	Souche isolée à T24	Quantification de la souche isolée à T24 (en UFC/mL)
1	Staphylococcus intermedius	100 000	Klebsiella pneumoniae	1 000 000
8	Escherichia coli	1 000 000	Escherichia coli	10 000
13	Escherichia coli	100 000	Escherichia coli	100 000
25	Staphylococcus pseudointermedius	100 000	Escherichia coli	10 000
29	Enterococcus faecalis	100 000	Enterococcus faecalis	1 000
32	Streptococcus canis	1 000 000	Tuerperella abortusuis / Escherichia coli	10 000
38	Escherichia coli / Enterococcus faecalis	100 000	Escherichia coli / Enterococcus faecalis	1 000
46	Enterobacter cloacae / Streptococcus canis	1 000 000	Enterobacter cloacae / Streptococcus canis	1 000 000
56	Staphylococcus intermedius	100 000 000	Staphylococcus intermedius	100 000 000

**Tableau 19 : Evolution des bactériologies urinaires des animaux diagnostiqués comme atteints d'une ITU à T0**

De même, certains de leurs résultats d'antibiogrammes ont évolué également. Sur les 9 chiens atteints d'une ITU à T0, 4 ont des profils de résistance sur les souches isolées à T24 différents de ceux de T0.

### 3. Discussion

#### 3.1. Influence des paramètres démographiques sur l'analyse d'urine

En ce qui concerne l'influence des paramètres démographiques, les paramètres influençant l'analyse urinaire semblent être le gabarit de l'animal et l'âge du chien.

##### 3.1.1. RPCU et stade IRIS

Les résultats de cette étude ont montré que ni le RPCU ni le stade IRIS ne dépendaient d'aucun paramètre démographique testé (âge, sexe, gabarit). Cette information est utile afin de mieux pouvoir envisager une souffrance rénale associée à un RPCU anormal, sans avoir à prendre en compte l'âge, le sexe, ou le gabarit de l'animal.

Même si le RPCU ne dépend pas des paramètres testés, il convient toutefois d'interpréter avec vigilance les résultats d'un RPCU anormal de par les variations quotidiennes des valeurs de RPCU (LeVine et al. 2010). Dans notre étude, les prélèvements ont tous été effectués au même moment de la journée, afin de s'affranchir de ces variations circadiennes.

##### 3.1.2. Cytologie urinaire

Les résultats de la cytologie urinaire ne dépendent pas de l'âge, du sexe ou du gabarit de l'animal à l'exception de la bactériurie observée à la cytologie.

En effet, celle-ci semble dépendre du gabarit de l'animal, plus le chien est petit, plus il a de chance d'avoir des bactéries observées à la cytologie urinaire.

Toutefois, au cours de cette étude, il n'y a eu qu'un seul animal, PUMA 32, sur lequel des bactéries ont été mises en évidence à la cytologie, ce résultat n'est donc pas interprétable et ne permet pas de conclure quant à un rôle du gabarit sur les résultats de cytologie urinaire.

Il est de même intéressant de remarquer que bien que des infections du tractus urinaire aient été diagnostiquées sur 9 animaux suite à une bactériologie urinaire, des bactéries ont été

isolées à la cytologie urinaire sur un seul de ces spécimens, ce qui montre bien le manque de sensibilité de ce test.

Il est également notable que, bien que les résultats ne soient pas significatifs, la cristallurie et la cylindrurie semblent dépendre du gabarit. Plus le chien est petit plus le risque qu'il présente des cylindres et des cristaux urinaires est grand. Cela va de pair avec le fait que, même si le résultat n'est pas significatif, la densité semble dépendre du gabarit également, plus le chien est petit plus la densité est faible. La densité plus faible pour des animaux de petit gabarit peut entraîner une plus forte concentration des éléments qui composent l'urine et donc entraîner des cristalluries et cylindruries plus importantes.

### *3.1.3. Bandelette urinaire*

En considérant toutes les plages de bandelette urinaire, seule la plage protéine dépend de l'âge de l'animal. Plus le chien est âgé, plus la quantité de protéine à la bandelette urinaire a de chance d'être grande. Ce résultat est toutefois en contradiction avec nos précédents résultats qui ont montré que le RPCU ne dépendait pas de l'âge de l'animal. Ceci est donc un argument de plus quant au manque de sélectivité de la bandelette urinaire par rapport à la plage protéine et justifie encore d'avantage l'utilisation du RPCU afin d'objectiver une protéinurie.

### *3.1.4. Bactériologie urinaire*

Les résultats de bactériologie urinaire indiquent que ceux-ci dépendent de l'âge de l'animal. Plus celui-ci est âgé plus le chien a de chance d'avoir une infection du tractus urinaire. Les résultats ne révèlent toutefois pas d'effet du sexe ou du gabarit de l'animal. Toutefois, le peu d'animaux présentant une infection urinaire, doit nous amener à prendre ces résultats avec précaution.

### **3.2. Influence du temps de stockage sur l'analyse d'urine**

#### **3.2.1. RPCU et stade IRIS**

Cette étude a permis de montrer qu'à 4 °C (température de conservation au réfrigérateur), le RPCU est significativement le même, 4 heures et 24 heures après le prélèvement d'urine.

Ce résultat est partiellement en accord avec les études de Rossi (Rossi et al. 2012), qui ont prouvé qu'à 4 °C le RPCU est conservé jusqu'à 4 heures post-prélèvement.

De même, le stade IRIS est conservé au cours du temps.

C'est la détermination de ce stade qui permet la mise en place d'un diagnostic et d'une décision thérapeutique. Le fait qu'il soit conservé après 4 heures et 24 heures de stockage prouve qu'il est possible, pour la détermination d'une protéinurie, de conserver les urines au réfrigérateur.

Ceci permet de s'affranchir de certains paramètres qui font varier la protéinurie, tel le stress en structure vétérinaire qui engendre une augmentation de celle-ci (Duffy, Specht, et Hill 2015). Une collecte chez et par le propriétaire, par miction spontanée après nettoyage de la zone uro-génitale serait donc possible afin de déterminer une protéinurie significativement semblable à celle détectée en clinique vétérinaire, à condition que les urines soient stockées au réfrigérateur pendant moins de 24 heures.

De façon générale, que les urines soient stockées ou non à 4 °C, les RPCU obtenus via un prélèvement par miction spontanée doivent quand même être interprétés avec précaution du fait de la présence de sédiment actif qui peut faire varier celui-ci.

#### **3.2.2. Cytologie urinaire**

De même, cette étude a montré que les résultats de la cytologie urinaire c'est-à-dire l'hématurie, la pyurie, la cylindrurie, la spermaturie, la bactériurie, la présence de cellules épithéliales et la cristallurie, ne variaient pas après conservation de l'urine à 4 °C pendant 4h et 24h.

Ces résultats sont en partie en contradiction avec une autre étude (Albasan et al. 2003), qui a mis en évidence que la cristallurie augmentait significativement après une conservation à 4 °C. Cette cristallurie augmente via la formation de néo-cristaux.

Cette formation de néo-cristaux a été visible chez certains animaux (par exemple PUMA 23 qui présentait une moyenne de 0.2 cristaux de stuvites à T0, mais qui présentait une moyenne de 20 cristaux d'oxalate de calcium et 0 de stuvites à T24) mais n'est pas significative. Ceci peut s'expliquer par le manque d'effectifs d'animaux présentant des cristaux à la cytologie urinaire (uniquement 17 animaux pour 60 chiens expérimentés) et par la faible médiane (0) des cristaux observés sur l'ensemble de l'effectif.

Il aurait également été intéressant d'étudier l'évolution de la cristallurie après conservation à température ambiante, température préconisée pour empêcher la formation de ces néo-cristaux avec un effectif beaucoup plus important.

Enfin, l'absence de réalisation d'une bandelette urinaire après 4 heures et 24 heures de conservation ne permet pas d'effectuer un parallèle entre l'évolution du pH des urines testées et l'évolution de la formation de ces néo-cristaux. Il serait intéressant dans une étude ultérieure d'évaluer l'évolution du pH des urines ainsi que de tous les résultats de la bandelette urinaire afin de voir si ces résultats sont conservés dans le temps.

Les résultats de cette étude n'étant pas en adéquation avec d'autres résultats trouvés dans la littérature, ils ne peuvent sans doute pas être considérés comme fiables étant donné le faible nombre de chiens inclus. Il n'est donc pas envisageable de conserver des urines obtenues par miction spontanée au réfrigérateur pendant 4 heures et 24 heures afin de réaliser une cytologie urinaire.

### 3.2.3. *Bactériologie urinaire*

En ce qui concerne la bactériurie, la croissance bactérienne et la présence d'une infection du tractus urinaire ne dépendent pas du temps de conservation à 4 °C. Ces résultats sont en accord avec d'autres études (Watson et Duerden 1977, Padilla et al. 1981, Jefferson et al. 1975) qui ont montré un maintien de la population bactérienne après conservation au réfrigérateur qui reste dans le même ordre de grandeur pour la majorité et dont 65% restent similaires.

Des infections du tractus urinaire n'ayant été constatées seulement sur 16% des individus (9 sur l'effectif total de 56), il est nécessaire de prendre avec précaution les résultats de bactériologie urinaire après conservation à 4°C, ceci afin d'éviter les faux positifs ou négatifs.

Les résultats de l'analyse bactériologique ont également permis de mettre en évidence dans certains cas une non conservation de la souche isolée. Pour certains animaux, la souche isolée après 24 heures de conservation n'est pas la même que celle isolée après lecture immédiate de

la bactériologie. Par exemple, pour PUMA 1 dont la souche isolée à T0 est *Staphylococcus intermedius* (100 000 UFC/mL) et qui après 24 heures de culture ne présente plus de *Staphylococcus intermedius* mais uniquement des *Klebsiella pneumoniae* (1 000 000 UFC/mL). Ce changement de souche isolée est associé à des spectres de résistances différents dans 4 cas sur 9. Ceci représente une limite importante à la conservation des urines pendant 24 heures car il peut en résulter une mauvaise identification de la souche pathogène ainsi que du profil de résistance associé.

Toutefois il faut prendre en considération que la présence de ce changement de souche peut être due au faible nombre de chiens inclus, ainsi qu'au faible nombre de chiens atteints d'une ITU.

## CONCLUSION

Cette étude a permis d'acquérir une meilleure connaissance des conséquences du stockage des urines à 4°C. Le RPCU d'urines prélevées par miction spontanée après nettoyage de la zone uro-génitale, ne varie pas suite à un stockage pendant 4 et 24 heures au réfrigérateur. Cette donnée est une véritable avancée car la réalisation de RPCU sur des urines prélevées en structure vétérinaire s'effectue le plus souvent dans des laboratoires spécialisés ce qui engendre par conséquent un délai entre prélèvement et analyse. De plus, le stress étant un facteur d'augmentation de la protéinurie, privilégier un mode de prélèvement par miction spontanée et au domicile du propriétaire, afin d'éviter tout stress inhérent à la venue dans la structure vétérinaire et à la réalisation d'une cystocentèse, peut être une solution afin d'éviter de faux positifs. Le propriétaire pourrait alors conserver les urines de son animal au réfrigérateur pendant maximum 24 heures avant de les amener pour analyse.

Cette étude a également permis de mettre en évidence une conservation des résultats des différentes étapes de la cytologie urinaire (cylindrurie, cristallurie, pyurie, hématurie, bactériurie, spermaturie et présence de cellules épithéliales) pour des urines conservées à 4 °C pendant 4 à 24 heures. Toutefois, ces résultats doivent être interprétés avec précaution car ils ne reflètent pas la formation de néo-cristaux observés par plusieurs autres études lors d'un stockage à 4 °C pendant 24 heures.

Enfin la croissance bactérienne et le diagnostic d'infection urinaire suite à la réalisation d'une bactériologie urinaire sont également conservés lors d'un stockage de 24 heures à 4°C. Comme pour le RPCU, les bactériologies urinaires sont en général effectuées par des laboratoires externes, ce qui nécessite un délai de stockage variable. La principale limite est la phase de transport des échantillons au laboratoire, durant laquelle les échantillons ne sont généralement plus réfrigérés.

Toutefois, il est important de prendre les résultats de cristallurie et de bactériologie urinaire avec précaution en considérant le faible effectif d'animaux présentant une cristallurie pathologique ou une infection du tractus urinaire ainsi que le faible nombre d'animaux inclus dans l'étude globale.

Une conservation des urines à 4 °C pendant 4 et 24 heures sur des urines de chien prélevées par miction spontanée est envisageable dans le cadre de la détermination du RPCU. Dans le cadre de la détermination de la cytologie urinaire et de la bactériologie urinaire, cette étude représente une bonne étape préliminaire à la réalisation d'une étude ultérieure comportant un plus grand nombre d'effectif de chiens atteints d'infection du tractus urinaire ou ayant une cytologie urinaire anormale.

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussignée, Rachel LAVOUE, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **DAURIAC Eve** intitulée « **Etude visant à évaluer les modifications du RPCU, de la cytologie et de la bactériologie dans les urines de chiens prélevées par miction spontanée après réfrigération.** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 19 septembre 2017  
Docteur Rachel LAVOUE  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :  
La Directrice de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Isabelle CHMITELIN

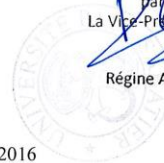


Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Monique COURTADE SAIDI



Vu et autorisation de l'impression :  
Président de l'Université  
Paul Sabatier

Monsieur Jean-Pierre VINEL  
Le Président de l'Université Paul Sabatier  
par délégation,  
La Vice-Présidente de la CFVU



Régine ANDRE-OBRECHT

Melle DAURIAC Eve  
a été admis(e) sur concours en : 2012  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 23/06/2016  
a validé son année d'approfondissement le : 13/07/2017  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.



## BIBLIOGRAPHIE

Albasan, Hasan, Jody P. Lulich, Carl A. Osborne, Chalernpol Lekcharoensuk, Lisa K. Ulrich, et Kathleen A. Carpenter. (2003). Effects of storage time and temperature on pH, specific gravity, and crystal formation in urine samples from dogs and cats . *Journal of the American Veterinary Medical Association* **222** (2): 176-79.

Amies, C. R. and Corpas, A. (1971). A preservative for urine specimens in transit to the bacteriological laboratory. *Journal of medical Microbiology.*, **4**, 362-365.

Bagley, Rodney S., Sharon A. Center, Robert M. Lewis, Sang Shin, Susan A. Dougherty, John F. Randolph, et Hollis Erb. (1991). The Effect of Experimental Cystitis and Iatrogenic Blood Contamination on the Urine Protein/Creatinine Ratio in the Dog . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **5** (2): 66-70.

Beatrice, Laura, Francesca Nizi, Daniela Callegari, Saverio Paltrinieri, Eric Zini, Paola D'Ippolito, et Andrea Zatelli. (2010). Comparison of urine protein-to-creatinine ratio in urine samples collected by cystocentesis versus free catch in dogs . *Journal of the American Veterinary Medical Association* **236** (11): 1221-24.

Biertuempfel, P. H., G. V. Ling, and G. A. Ling. (1981). Urinary Tract Infection Resulting from Catheterization in Healthy Adult Dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **178**(9): 989–991.

Bodnariu, A. (2008). Indicators of Stress and Stress Assessment in Dogs **41**: 20–26.

Brinkman, Jacoline W., Dick de Zeeuw, Jacko J. Duker, Ronald T. Gansevoort, Ido P. Kema, Hans L. Hillege, Paul E. de Jong, et Stephan J.L. Bakker. (2005). Falsely Low Urinary Albumin Concentrations after Prolonged Frozen Storage of Urine Samples . *Clinical Chemistry* **51** (11): 2181.

Burkholder, William J., George E. Lees, Amy K. LeBlanc, Margaret R. Slater, John E. Bauer, Clifford E. Kashtan, Barbara A. McCracken, et Steven S. Hannah. (2004). Diet Modulates Proteinuria in Heterozygous Female Dogs with X-Linked Hereditary Nephropathy . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **18** (2): 165-75.

Carter, J. M., J. S. Klausner, C. A. Osborne, and F. Y. Bates. (1978). Comparison of Collection Techniques for Quantitative Urine Culture in Dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **173**(3): 296–298.

Comer, K. M., and G. V. Ling. (1981). Results of Urinalysis and Bacterial Culture of Canine Urine Obtained by Antepubic Cystocentesis, Catheterization, and the Midstream Voided Methods. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **179**(9): 891–895.

Dibartola, S. P., Chew, D. J., and Jacobs, G. (1980). Quantitative urinalysis including 24-hour protein excretion in the dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, **16**, 537-546.

Duffy, M.E., A. Specht, et R.C. Hill. (2015). Comparison between Urine Protein: Creatinine Ratios of Samples Obtained from Dogs in Home and Hospital Settings . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **29** (4): 1029-35.

Finke, M. D., et B. A. Litzenberger. (1992) . Effect of food intake on urine pH in cats . *Journal of Small Animal Practice* **33** (6): 261-65.

Gleaton, H. K., J. W. Bartges, and D. P. Laflamme. (2001). Influence of Diet on Urinary pH, Urine and Serum Biochemical Variables, and Blood-Ionized Calcium Concentrations in Healthy Dogs. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine* **2**(1): 61–69.

Guenther, K L, et J A Washington. (1981). Evaluation of the B-D urine culture kit. *Journal of Clinical Microbiology* **14** (6): 628-30.

Hindman, R, B Tronic, et R Bartlett. (1976). Effect of delay on culture of urine. *Journal of Clinical Microbiology* **4** (1): 102-3.

Hooijberg, Emma, Ernst Leidinger, et Kathleen P. Freeman. (2012). An error management system in a veterinary clinical laboratory . *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **24** (3): 458-68.

Huvé R; Plante L; Diemer M; Palanché F; Layssol C, Geffré C; Trumel C ; Lavoué R .(2016). Presence of Active Urine Sediment in Dogs is Not Associated with Significant Changes of Urine Protein-to-Creatinine Ratio. *Proceeding of the 26<sup>th</sup> ECVIM Congress*, Göteborg, p313.

IRIS Canine GN Study Group Diagnosis Subgroup, M.P. Littman, S. Daminet, G.F. Grauer, G.E. Lees, et A.M. van Dongen. (2013). Consensus Recommendations for the Diagnostic Investigation of Dogs with Suspected Glomerular Disease . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **27** S19-26.

Jacob, Frédéric, David J. Polzin, Carl A. Osborne, James D. Neaton, Claudia A. Kirk, Timothy A. Allen, et Laurie L. Swanson. (2005). Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure . *Journal of the American Veterinary Medical Association* **226** (3): 393-400.

Jefferson, H., H. P. Dalton, M. R. Escobar, and M. J. Allison. (1975). Transportation Delay and the Microbiological Quality of Clinical Specimens. *American Journal of Clinical Pathology* **64**(5): 689–693.

Jergens, A. E., D. L. McCaw, and J. E. Hewett. (1987). Effects of Collection Time and Food Consumption on the Urine Protein/creatinine Ratio in the Dog. *American Journal of Veterinary Research* **48**(7): 1106–1109.

Lees, George E., Scott A. Brown, Jonathan Elliott, Gregory F. Grauer, et Shelly L. Vaden. (2005). Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal) . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **19** (3): 377-85.

LeVine, Dana N., Daowen Zhang, Tonya Harris, et Shelly L. Vaden. (2010). The use of pooled vs serial urine samples to measure urine protein:creatinine ratios . *Veterinary Clinical Pathology* **39** (1): 53-56.

McCaw, D. L., D. W. Knapp, and J. E. Hewett. (1985). Effect of Collection Time and Exercise Restriction on the Prediction of Urine Protein Excretion, Using Urine Protein/creatinine Ratio in Dogs. *American Journal of Veterinary Research* **46**(8): 1665–1669.

MacLeay, Jennifer M., et Catherine W. Kohn. (1998). Results of Quantitative Cultures of Urine by Free Catch and Catheterization from Healthy Adult Horses . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **12** (2): 76-78.

Meers, P D, et C K Chow. (1990). Bacteriostatic and bactericidal actions of boric acid against bacteria and fungi commonly found in urine. *Journal of Clinical Pathology* **43** (6): 484- 87.

MURAT, Philippe, et Ecole Nationale de la Santé Publique. (E.N.S.P.). Rennes. (2003). La phase pré-analytique des analyses de biologie médicale. Rôle du PHISP : Comment le biologiste assure la maîtrise de cette étape. BDSP/ENSP : 132483.

Nabity, Mary B., May M. Boggess, Clifford E. Kashtan, et George E. Lees. (2007). Day-to-Day Variation of the Urine Protein: Creatinine Ratio in Female Dogs with Stable Glomerular Proteinuria Caused by X-Linked Hereditary Nephropathy . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **21** (3): 425-30.

Noh, Jong-Yun, Dong-Hee Han, Ji-Ae Yoon, Mi-Hee Kim, Sung-Eun Kim, Il-Gyu Ko, Khae-Hawn Kim, Chang-Ju Kim, et Sehyung Cho. (2011). Circadian Rhythms in Urinary Functions: Possible Roles of Circadian Clocks? *International Neuourology Journal* **15** (2): 64-73.

Padilla, J., C. A. Osborne, and G. E. Ward. (1981). Effects of Storage Time and Temperature on Quantitative Culture of Canine Urine. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **178**(10): 1077–1081.

Perrin, J., et J. Nicolet. (1992). Influence of the Transport on the Outcome of the Bacteriological Analysis of Dog Urine Comparison of Three Transport Tubes . *Journal of Veterinary Medicine, Series B* **39** (1-10): 662- 67.

Porter, I A, et J Brodie. (1969). Boric Acid Preservation of Urine Samples . *British Medical Journal* **2** (5653): 353-55.

Price, Christopher P., Ronald G. Newall, et James C. Boyd. (2005). Use of Protein:Creatinine Ratio Measurements on Random Urine Samples for Prediction of Significant Proteinuria: A Systematic Review . *Clinical Chemistry* **51** (9): 1577.

Rabinovitch, Albert, and Clinical and Laboratory Standards Institute (2009). Urinalysis:Approved Guideline. Wayne, Pa.: *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

Reine, Nyssa J., et Cathy E. Langston. (2005). Urinalysis interpretation: How to squeeze out the maximum information from a small sample . *Diagnostic Techniques of the Urinary Tract* **20** (1): 2-10.

Rossi, Gabriele, Luca Giori, Simona Campagnola, Andrea Zatelli, Eric Zini, et Saverio Paltrinieri. (2012). Evaluation of factors that affect analytic variability of urine protein-to-creatinine ratio determination in dogs . *American Journal of Veterinary Research* **73** (6): 779-88.

Rowlands, M., L. Blackwood, A. Mas, P. Cripps, C. Crompton, et R. Burrow. (2011). The effect of boric acid on bacterial culture of canine and feline urine . *Journal of Small Animal Practice* **52** (10): 510-14.

Saetun, Putita, Tistaya Semangoen, et Visith Thongboonkerd. (2009). Characterizations of urinary sediments precipitated after freezing and their effects on urinary protein and chemical analyses . *American Journal of Physiology - Renal Physiology* **296** (6): F1346.

Schellenberg, S., M. Mettler, F. Gentilini, R. Portmann, T.M. Glaus, et C.E. Reusch. (2008). The Effects of Hydrocortisone on Systemic Arterial Blood Pressure and Urinary Protein Excretion in Dogs . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **22** (2): 273-81.

Schultz, C. J., R. N. Dalton, C. Turner, H. A. W. Neil, D. B. Dunger, et For The Oxford Regional Prospective Study Group. (2000). Freezing method affects the concentration and

variability of urine proteins and the interpretation of data on microalbuminuria . *Diabetic Medicine* **17** (1): 7-14.

Smets, Pascale M. Y., Evelyne Meyer, Bert Maddens, Luc Duchateau, et Sylvie Daminet. (2010). Effect of Sampling Method and Storage Conditions on Albumin, Retinol-Binding Protein, And N-Acetyl- $\beta$ -D-Glucosaminidase Concentrations in Canine Urine Samples . *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **22** (6): 896-902.

Smets, P.M.Y., E. Meyer, B.E.J. Maddens, L. Duchateau, et S. Daminet. (2010). Urinary Markers in Healthy Young and Aged Dogs and Dogs with Chronic Kidney Disease . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **24** (1): 65-72.

Sørensen, T.M., A.B. Jensen, P. Damborg, C.R. Bjørnvad, L. Guardabassi, et L.R. Jessen. (2016). Evaluation of different sampling methods and criteria for diagnosing canine urinary tract infection by quantitative bacterial culture . *The Veterinary Journal* **216** : 168-73.

Steinberg, E., K. Drobotz, et L. Aronson. (2009). The effect of substrate composition and storage time on urine specific gravity in dogs . *Journal of Small Animal Practice* **50** (10): 536-39.

Stevenson AE, Wrigglesworth DJ, Smith BHE. (2000). Effects of dietary potassium citrate supplementation on urine pH and urinary relative supersaturation of calcium oxalate and struvite in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research Res* **61**:430–435.

Sturgess, CP, A Hesford, H Owen, et R Privett. (2001). An Investigation into the Effects of Storage on the Diagnosis of Crystalluria in Cats . *Journal of Feline Medicine and Surgery* **3** (2): 81-85.

Vaden, Shelly L., Barrak M. Pressler, Michael R. Lappin, et Wayne A. Jensen. (2004). Effects of urinary tract inflammation and sample blood contamination on urine albumin and total protein concentrations in canine urine samples . *Veterinary Clinical Pathology* **33** (1): 14-19.

Vonderen, Ilse K. van, Hans S. Kooistra, et Ad Rijnberk. (1997). Intra- and Interindividual Variation in Urine Osmolality and Urine Specific Gravity in Healthy Pet Dogs of Various Ages . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **11** (1): 30- 35.. Influence of Veterinary Care on the Urinary Corticoid: Creatinine Ratio in Dogs . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **12** (6): 431- 35.


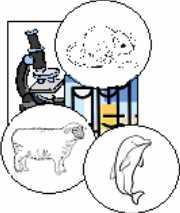
Waters, Carrie B., Larry G. Adams, J. Catharine Scott-Moncrieff, Dennis B. DeNicola, Paul W. Snyder, M. Randall White, et Mauro Gasparini. (1997) Effects of Glucocorticoid Therapy on Urine Protein-to-Creatinine Ratios and Renal Morphology in Dogs . *Journal of Veterinary Internal Medicine* **11** (3): 172-77.

Watson, P G, et B I Duerden. (1977) Laboratory assessment of physical and chemical methods of preserving urine specimens. *Journal of Clinical Pathology* **30** (6): 532.

Zatelli, Andrea, Saverio Paltrinieri, Francesca Nizi, Xavier Roura, et Eric Zini. (2010). Evaluation of a urine dipstick test for confirmation or exclusion of proteinuria in dogs . *American Journal of Veterinary Research* **71** (2): 235-40.

## ANNEXES

### Annexe 1 : Consentement éclairé

 	<p><b>Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée<sup>1</sup></b></p> <p><b>Unité de Médecine Interne des Carnivores Domestiques<sup>2</sup></b></p> <p>ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France</p> <p>1 ☎ : +33 561 193 831; mail <a href="mailto:c.trumel@envt.fr">c.trumel@envt.fr</a></p> <p>2 ☎ : +33 561 192 319 : mail <a href="mailto:r.lavoue@envt.fr">r.lavoue@envt.fr</a></p>	<p><i>Annexe 1</i></p> <p><b>CONSENTEMENT ECLAIRE</b></p>
<p><b>Étude visant à évaluer les modifications du RPCU et de la cytologie dans les urines de chiens prélevées par miction naturelle après réfrigération</b></p>		

Étude effectuée au sein de l'E.N.V.T. entre le 25 Octobre 2016 et le 30 Avril 2017

L'objectif est d'évaluer les modifications du RPCU et de la cytologie dans les urines de chiens prélevées par miction naturelle entre l'analyse immédiate et après réfrigération.

Les prélèvements urinaires utilisés pour cette étude ne sont réalisés que dans un contexte médical encadré et ont un intérêt immédiat dans l'évaluation de l'état de santé du chien sauf pour les animaux dont les propriétaires sont volontaires. Aucun effet secondaire néfaste n'est à craindre.

**Je, soussigné(e) .....**

**Propriétaire du (des) chien(s) :**

.....  
.....

N° d'identification (éventuellement)

.....

**Atteste avoir lu les paragraphes précédents, avoir été clairement informé du caractère facultatif de cette étude et avoir conscience de ma totale liberté de refuser que mon chien y participe.**

**Et accepte que mon (mes) chien(s) soi(en)t inclus dans l'étude.**


À .....

le

.....

Signature :

**Annexe 2 : Fiche d'identification de l'animal**

	<p><b>Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée<sup>1</sup></b></p> <p><b>Unité de Médecine Interne des Carnivores Domestiques<sup>2</sup></b></p> <p>ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France</p> <p>1 ☎ : +33 561 193 831; mail <a href="mailto:c.trumel@envt.fr">c.trumel@envt.fr</a></p> <p>2 ☎ : +33 561 192 319 : mail <a href="mailto:r.lavoue@envt.fr">r.lavoue@envt.fr</a></p>	<p><i>Annexe 2</i></p> <p><i>FICHE DE RENSEIGNEMENT</i></p>
<p><b>Étude visant à évaluer les modifications du RPCU et de la cytologie dans les urines de chiens prélevées par miction naturelle après réfrigération</b></p>		

**Date et heure de prélèvement des urines:**

.....

.....

**Numéro d'Identification pour l'Etude :**



.....  
.....  
**Coordonnées du Propriétaire :**

Nom : .....

.....

Adresse : .....

.....

.....

.....

**Signalement de l'animal :**

Nom complet: .....

.....

N° de dossier ENVV

.....

Date de naissance : ..... Sexe : ..... Stérilisé :  Oui

Non

**Questions Préliminaires :**

Motif de consultation à l'ENVV (écrire « volontaire » si patient volontaire)

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Motif de réalisation de l'analyse d'urine (écrire « volontaire » si patient volontaire)

.....

.....

.....  
.....  
.....  
.....

Antécédents connus d'affection du tractus urinaire et/ou de protéinurie?

Oui

Non

Si oui, a-t-on des précisions sur les anomalies mises en évidence:

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

Hypothèses diagnostiques


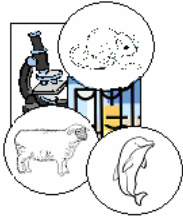
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

Commentaires :

.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

.....  
.....  
.....

**Annexe 3 : Fiche de résultats d'analyse**

 	<p><b>Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée<sup>1</sup></b></p> <p><b>Unité de Médecine Interne des Carnivores Domestiques<sup>2</sup></b></p> <p>ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France</p> <p>1 ☎ : +33 561 193 831; mail <a href="mailto:c.trumel@envt.fr">c.trumel@envt.fr</a></p> <p>2 ☎ : +33 561 192 319 : mail <a href="mailto:r.lavoue@envt.fr">r.lavoue@envt.fr</a></p>	<p><i>Annexe 3</i></p> <p><i>FICHE ANALYTIQUE</i></p>
<p><b>Étude visant à évaluer les modifications du RPCU et de la cytologie dans les urines de chiens prélevées par miction naturelle après réfrigération</b></p>		

Numéro d'Identification pour l'Etude :

.....  
.....

Informations relatives au prélèvement :

Volume total d'urine disponible : .....

Date et Heure de prélèvement des urines : .....

Heure de dépôt des urines au laboratoire : .....

Intervalle < 2 heures respecté entre le prélèvement et l'analyse?

Oui       Non

Echantillonnage des urines :

**Heure de centrifugation :** .....

**Heure de rangement à +4°C :** .....

Remarques / difficultés :

.....  
.....  
.....  
.....

### Analyses immédiates

**Densité urinaire :** .....

**Bandelettes urinaires (par imbibition des plages réactives) :**

**pH :**

leucocytes		Sang	
nitrites		Cétones	
urobilinogène		Bilirubine	
protéines		glucose	

### Analyse immédiate du sédiment

Eléments comptés	Champ 1	Champ 2	Champ 3	Champ 4	Champ 5	Champ 6	Champ 7	Champ 8	Champ 9	Champ 10
Cristaux (x100)										
Hématie (x400)										
Leucocytes (x400)										
Cylindres (x100)										
Bactérie										

Spermatoz oïdes										
--------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

**Conclusions analyse cytologique / Commentaires :**

.....  
 .....

**Analyses après 4 à 6h de réfrigération : (Préciser heure d'analyse)**

**Densité urinaire :** .....

**Bandelettes urinaires (par imbibition des plages réactives) :**

**pH :**

leucocytes		Sang	
nitrites		Cétones	
urobilinogène		Bilirubine	
protéines		glucose	

**Analyse du sédiment après 4 à 6h de réfrigération**

Éléments comptés	Champ 1	Champ 2	Champ 3	Champ 4	Champ 5	Champ 6	Champ 7	Champ 8	Champ 9	Champ 10
Cristaux (x100)										
Hématie (x400)										
Leucocytes (x400)										
Cylindres (x100)										
Bactérie										

Spermatoz oïdes										
--------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

**Conclusions analyse cytologique / Commentaires :**

.....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....

**Analyses après 22 à 26h de réfrigération : (Préciser heure d'analyse)**

**Densité urinaire :** .....

**Bandelettes urinaires (par imbibition des plages réactives) :**

**pH :**

leucocytes		Sang	
nitrites		Cétones	
urobilinogène		Bilirubine	
protéines		glucose	

**Analyse du sédiment après 22 à 26h de réfrigération**

Eléments comptés	Champ 1	Champ 2	Champ 3	Champ 4	Champ 5	Champ 6	Champ 7	Champ 8	Champ 9	Champ 10
---------------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	-------------

Cristaux (x100)										
Hématie (x400)										
Leucocytes (x400)										
Cylindres (x100)										
Bactérie										
Spermatozoïdes										

**Conclusions analyse cytologique / Commentaires :**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**Quantification du RPCU**

	Mesure directe	Mesure 4 à 6h après réfrigération à +4°C	Mesure 22 à 26h après réfrigération à +4°C
<b>Date et heure d'analyse</b>			
<b>Protéinurie (mg/L)</b>			
<b>Créatininurie (mg/L)</b>			
<b>RPCU</b>			

**Remarques / Difficultés :**

.....  
.....  
.....  
  
.....  
.....  
.....




## Annexe 4 : Ordonnance de bactériologie



### ETUDE PUMA ENVT

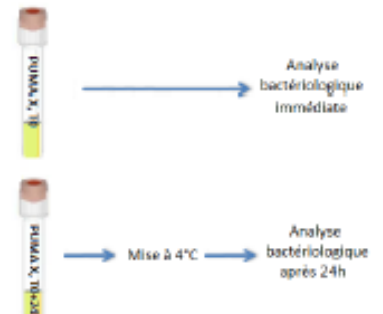


#### EXAMEN CYTOLOGIQUE ET BACTERIOLOGIQUE DES URINES

<b>Date :</b>  <b>Signature : Dr Rachel Lavoué</b> 	<b>Identification :</b>  <b>Nom : ENVT PUMA</b> <b>Prénom : PUMA .....</b>
---	---

**Cultures bactériologiques quantitatives urinaires**  
**seuil de détection  $10^2$  UFC/mL**

- Prélèvement PUMA ..... T0 à ensemercer immédiatement (10h)
- Prélèvement PUMA ..... T0+24 à placer à 4°C et à ensemercer demain à 10h



- Résultats à mettre en ligne sur le serveur avec coordonnées d'identification

*Facturation en fin d'étude, vu avec Benoit Fontenel*

**Annexe 5 : Données statistiques pour l'évaluation des cristaux de struvite**

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
CONSTANT	-27,9158	1,8758	-14,8820	0,000	-31,5923	-24,2393
AGE	0,0317	0,1117	0,2834	0,7769	-0,1874	0,2507
SEXES_F	-1,0238	1,8498	-0,5535	0,579	-4,6492	2,6017
SEXES_FS	-1,4219	1,6552	-0,8591	0,390	-4,6661	1,8222
SEXES_M	-0,0908	1,4195	-0,0640	0,949	-2,8731	2,6915
GABARIT_1	28,9615	1,0151	28,5308	0,000	26,9720	30,9511
GABARIT_2	27,4318	0,0000	.	.	27,4318	27,4318
DéLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO_MIN	-0,0385	0,0320	-1,2003	0,230	-0,1013	0,0243

**Annexe 6 : Données statistiques pour l'évaluation des calculs d'oxalate de calcium**

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
CONSTANT	-58,6177	2,8987	-20,22108	0,000	-64,2991	-52,9362
AGE	0,3941	0,6784	0,5809	0,5613	-0,9356	1,7237
SEXES_F	-10,4217	2,5293E+00	0,0000	1,0000	-4,9573E+008	4,9573E+008
SEXES_FS	-12,8093	2,2983E+00	0,0000	1,0000	-4,5047E+008	4,5047E+008
SEXES_M	29,5123	0,0000	.	.	29,5123	29,5123
GABARIT_1	-10,6807	2,2307E+00	0,0000	1,0000	-4,3721E+008	4,3721E+008
GABARIT_2	28,7951	0,0000	.	.	28,7951	28,7951
DéLAI_COLLECTE_ANALYSE_CYTO_MI	-0,1811	0,2246	-0,80640	0,420	-0,6213	0,2591

**Annexe 7 : Données statistiques pour l'évaluation de la plage glucose à la bandelette urinaire**

<b>Parameter Estimates</b>						
<b>Parameter</b>	<b>Estimate</b>	<b>Standard Error</b>	<b>Z</b>	<b>p-Value</b>	<b>95% Confidence Interval</b>	
					<b>Lower</b>	<b>Upper</b>
Choice Group: 1,0 Vs 0						
CONSTANT	-34,2300	2,9651	-11,5444	0,0000	-40,0414	-28,4186
AGE	0,3303	0,1907	1,7323	0,0832	-0,0434	0,7040
SEXES_F	-9,62858	1,7777E+00	0,0000	1,0000	-3,4843E+008	3,4843E+008
SEXES_FS	-10,2862	1,1954E+00	0,0000	1,0000	-2,3429E+008	2,3429E+008
SEXES_M	28,4292	0,0000	.	.	28,4292	28,4292
GABARIT_1	0,6135	1,9255	0,3186	0,7500	-3,1605	4,3874
GABARIT_2	0,2910	1,6730	0,1739	0,8619	-2,9880	3,5699
DÉLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	0,0186	0,0405	0,4588	0,6464	-0,0608	0,0980
Choice Group: 3,0 Vs 0						
CONSTANT	-27,724	3,5489	-7,8120	0,0000	-34,6802	-20,7686

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
	4		1			
AGE	0,0403	0,2389	0,1687	0,8660	-0,4280	0,5086
SEXES_F	-76,7612	1,7132E+00	0,0000	1,0000	-3,3577E+008	3,3577E+008
SEXES_FS	-0,8911	1,6969	-0,5251	0,5995	-4,2170	2,4349
SEXES_M	-75,3524	8,8978E+00	0,0000	1,0000	-1,7439E+008	1,7439E+008
GABARIT_1	65,6287	6,3094E+00	0,0000	1,0000	-1,2366E+008	1,2366E+008
GABARIT_2	26,8718	0,0000	.	.	26,8718	26,8718
DÉLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO_MIN	-0,0300	0,0589	-0,5095	0,6104	-0,1454	0,0854

**Annexe 8 : Données statistiques pour l'évaluation de la plage bilirubine à la bandelette urinaire**

<b>Parameter Estimates</b>						
<b>Parameter</b>	<b>Estimate</b>	<b>Standard Error</b>	<b>Z</b>	<b>p-Value</b>	<b>95% Confidence Interval</b>	
					<b>Lower</b>	<b>Upper</b>
Choice Group: 0,0 Vs 3						
CONSTANT	59,9011	2,1511	27,8465	0,0000	55,6849	64,1172
AGE	-0,0904	0,1319	-0,6853	0,4931	-0,3489	0,1681
SEXES_F	1,5155	1,4434	1,0499	0,2938	-1,3136	4,3445
SEXES_FS	-27,8210	1,5015	-18,5288	0,0000	-30,7639	-24,8781
SEXES_M	-28,2227	0,0000	.	.	-28,2227	-28,2227
GABARIT_1	-29,2419	1,5245	-19,1816	0,0000	-32,2299	-26,2540
GABARIT_2	-28,0169	0,9795	-28,6029	0,0000	-29,9367	-26,0971
DéLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	-0,0296	0,0360	-0,8224	0,4108	-0,1001	0,0409

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
Choice Group: 1,0 Vs 3						
CONSTANT	29,9403	2,1473	13,9434	0,0000	25,7317	34,1489
AGE	-0,3590	0,2251	-1,5953	0,1106	-0,8002	0,0821
SEXES\$_F	31,0759	0,0000	.	.	31,0759	31,0759
SEXES\$_FS	-37,23188	1,0987E+00	0,0000	1,0000	-2,1535E+008	2,1535E+008
SEXES\$_M	0,5450	0,0000	.	.	0,5450	0,5450
GABARIT_1	-68,5413	7,9448E+00	0,0000	1,0000	-1,5572E+008	1,5572E+008
GABARIT_2	-28,1534	0,0000	.	.	-28,1534	-28,1534
DéLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	0,0057	0,0427	0,1342	0,8932	-0,0780	0,0895
Choice Group: 2,0 Vs 3						
CONSTANT	1,5877	2,6256	0,6047	0,5454	-3,5583	6,7337
AGE	-0,0046	0,2845	-0,0160	0,9870	-0,5622	0,5529

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
			2			
SEXES_F	-8,34408	1,3695E+00	0,0000	1,0000	-2,6842E+008	2,6842E+008
SEXES_FS	-38,7591	1,2721E+00	0,0000	1,0000	-2,4932E+008	2,4932E+008
SEXES_M	0,0567	0,0000	.	.	0,0567	0,0567
GABARIT_1	-38,7317	1,1172E+00	0,0000	1,0000	-2,1898E+008	2,1898E+008
GABARIT_2	0,1588	0,0000	.	.	0,1588	0,1588
DÉLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO_MIN	-0,0374	0,0660	-0,5661	0,5713	-0,1668	0,0921

**Annexe 9 : Données statistiques pour l'évaluation de la plage sang à la bandelette urinaire**

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
Choice Group: 0,0 Vs 4						
CONSTANT	3,3152	4,3707	0,7585	0,4481	-5,2511	11,8816



<b>Parameter Estimates</b>						
<b>Parameter</b>	<b>Estimate</b>	<b>Standard Error</b>	<b>Z</b>	<b>p-Value</b>	<b>95% Confidence Interval</b>	
					<b>Lower</b>	<b>Upper</b>
AGE	-0,0563	0,1206	-0,4666	0,6408	-0,2926	0,1800
SEXES_F	2,4996	4,4570	0,5608	0,5749	-6,2360	11,2352
SEXES_FS	2,9039	4,7912	0,6061	0,5444	-6,4866	12,2945
SEXES_M	-0,5088	2,7202	-0,1871	0,8516	-5,8404	4,8227
GABARIT_1	-0,8338	1,5369	-0,5425	0,5875	-3,8460	2,1785
GABARIT_2	0,3473	1,2728	0,2729	0,7849	-2,1473	2,8420
DÉLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	-0,0096	0,0385	-0,2502	0,8024	-0,0851	0,0658
Choice Group: 1,0 Vs 4						
CONSTANT	-2,9930	6,9485	-0,4307	0,6667	-16,6119	10,6258
AGE	-0,2274	0,3107	-0,7318	0,4643	-0,8363	0,3816
SEXES_F	3,2529	6,7708	0,480	0,630	-10,0176	16,5234

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
			4	9		
SEXES_FS	3,5461	8,3797	0,4232	0,6722	-12,8779	19,9701
SEXES_M	2,5581	5,6983	0,4489	0,6535	-8,6104	13,7265
GABARIT_1	0,5468	2,9117	0,1878	0,8510	-5,1600	6,2536
GABARIT_2	1,3771	2,0057	0,6866	0,4923	-2,5539	5,3082
Délai__COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	0,0343	0,0879	0,3898	0,6967	-0,1381	0,2067
Choice Group: 2,0 Vs 4						
CONSTANT	-2,7302	6,1314	-0,4453	0,6561	-14,7476	9,2872
AGE	0,3197	0,2680	1,1931	0,2328	-0,2055	0,8450
SEXES_F	-1,4129	7,5632	-0,1868	0,8518	-16,2366	13,4107
SEXES_FS	-2,3820	6,7081	-0,3551	0,7225	-15,5296	10,7656
SEXES_M	0,4104	3,1259	0,1313	0,8956	-5,7163	6,5371

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
GABARIT_1	-1,0476	4,5173	-0,2319	0,8166	-9,9014	7,8061
GABARIT_2	3,2400	3,5427	0,9145	0,3604	-3,7036	10,1835
DéLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	-0,0948	0,0919	-1,0308	0,3026	-0,2750	0,0854
Choice Group: 3,0 Vs 4						
CONSTANT	-4,8946	9,6003	-0,5098	0,6102	-23,7107	13,9216
AGE	-0,0470	0,3369	-0,1395	0,8891	-0,7074	0,6134
SEXES_F	1,5896	11,4156	0,1392	0,8893	-20,7846	23,9639
SEXES_FS	1,9157	9,9343	0,1928	0,8471	-17,5551	21,3865
SEXES_M	2,9505	7,3872	0,3994	0,6896	-11,5281	17,4292
GABARIT_1	1,2770	5,8815	0,2171	0,8281	-10,2505	12,8045
GABARIT_2	4,5470	4,7126	0,9649	0,3346	-4,6895	13,7835

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
Délai__COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	-0,0853	0,0930	-0,91720	0,359	-0,2675	0,0970

**Annexe 10 :Données statistiques pour l'évaluation de la plage protéine à la bandelette urinaire**

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
Choice Group: 1,0 Vs 0						
CONSTANT	-0,4150	1,5548	-0,2669	0,7896	-3,4623	2,6323
AGE	0,1144	0,1086	1,0527	0,2925	-0,0986	0,3273
SEXES_F	1,7382	1,5373	1,1307	0,2582	-1,2748	4,7512
SEXES_FS	-0,9080	1,1868	-0,7651	0,4442	-3,2341	1,4180
SEXES_M	0,9173	1,0312	0,8895	0,3737	-1,1039	2,9385
GABARIT_1	0,2599	1,1750	0,2212	0,8250	-2,0431	2,5629

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
GABARIT_2	0,8471	0,8073	1,0493	0,2940	-0,7352	2,4294
DéLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	-0,0174	0,0193	-0,8993	0,3685	-0,0552	0,0205
Choice Group: 2,0 Vs 0						
CONSTANT	-5,3879	3,5407	-1,5217	0,1281	-12,3276	1,5518
AGE	0,8463	0,3774	2,2423	0,0249	0,1066	1,5860
SEXES_F	-34,0515	8,8755E+00	0,0000	1,0000	-1,7396E+008	1,7396E+008
SEXES_FS	-2,0596	2,1824	-0,9438	0,3453	-6,3370	2,2177
SEXES_M	3,3902	2,2574	1,5018	0,1331	-1,0342	7,8146
GABARIT_1	-39,7287	5,7772E+00	0,0000	1,0000	-1,1323E+008	1,1323E+008
GABARIT_2	-0,1740	1,5547	-0,1119	0,9109	-3,2211	2,8731
DéLAI_COLLECTE_ANALYSE_C	-	0,0822	-	0,089	-0,3008	0,0214

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
YTO__MIN	0,1397		1,700 0	1		
Choice Group: 3,0 Vs 0						
CONSTANT	-30,437 7	1,6821	-18,09 45	0,000 0	-33,7346	-27,1407
AGE	0,2280	0,1379	1,653 5	0,098 2	-0,0423	0,4983
SEXES_F	28,305 7	1,6110	17,57 05	0,000 0	25,1482	31,4631
SEXES_FS	25,839 8	1,5848	16,30 50	0,000 0	22,7337	28,9459
SEXES_M	28,462 4	0,0000	.	.	28,4624	28,4624
GABARIT_1	1,3214	1,4116	0,936 1	0,349 2	-1,4454	4,0881
GABARIT_2	0,7777	1,1815	0,658 2	0,510 4	-1,5381	3,0935
DéLAI__COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	0,0049	0,0269	0,181 3	0,856 2	-0,0478	0,0575

**Annexe 11 : Données statistiques pour l'évaluation de la plage leucocyte à la bandelette urinaire**

<b>Parameter Estimates</b>						
<b>Parameter</b>	<b>Estimate</b>	<b>Standard Error</b>	<b>Z</b>	<b>p-Value</b>	<b>95% Confidence Interval</b>	
					<b>Lower</b>	<b>Upper</b>
Choice Group: 0,0 Vs 3						
CONSTANT	31,7257	1,8850	16,8302	0,0000	28,0311	35,4203
AGE	-0,4977	0,3763	-1,3224	0,1860	-1,2353	0,2400
SEXES\$_F	8,7416	9,1188E+00	0,0000	1,0000	-1,7873E+008	1,7873E+008
SEXES\$_FS	11,5645	8,1403E+00	0,0000	1,0000	-1,5955E+008	1,5955E+008
SEXES\$_M	-30,0539	0,0000	.	.	-30,0539	-30,0539
GABARIT_1	38,3715	7,2322E+00	0,0000	1,0000	-1,4175E+008	1,4175E+008
GABARIT_2	-0,8804	1,6692	-0,5274	0,5979	-4,1519	2,3912
DéLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	0,1430	0,1030	1,3885	0,1650	-0,0589	0,3449
Choice Group: 2,0 Vs 3						

Parameter Estimates						
Parameter	Estimate	Standard Error	Z	p-Value	95% Confidence Interval	
					Lower	Upper
CONSTANT	-1,1788	3,1105	-0,37970	0,7047	-7,2753	4,9177
AGE	-0,2263	0,4240	-0,5336	0,5936	-1,0573	0,6048
SEXES_F	0,3705	1,3567E+008	0,0000	1,0000	-2,6592E+008	2,6592E+008
SEXES_FS	1,7313	1,2215E+008	0,0000	1,0000	-2,3940E+008	2,3940E+008
SEXES_M	-1,2679	0,0000	.	.	-1,2679	-1,2679
GABARIT_1	0,5415	1,1205E+008	0,0000	1,0000	-2,1962E+008	2,1962E+008
GABARIT_2	-0,8079	2,2064	-0,36631	0,7143	-5,1323	3,5166
DÉLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO_MIN	0,1408	0,1112	1,2661	0,2055	-0,0771	0,3587



**Annexe 12 : Données statistiques des résultats de bactériologie urinaire**

<b>Parameter Estimates</b>						
<b>Parameter</b>	<b>Estimate</b>	<b>Standard Error</b>	<b>Z</b>	<b>p-Value</b>	<b>95% Confidence Interval</b>	
					<b>Lower</b>	<b>Upper</b>
CONSTANT	4,5507	2,1884	2,0795	0,0376	0,2615	8,8398
AGE	-0,3070	0,1295	-2,3710	0,0177	-0,5608	-0,0532
SEXES_F	-2,0634	1,6680	-1,2371	0,2161	-5,3327	1,2058
SEXES_FS	0,8283	1,6629	0,4981	0,6184	-2,4310	4,0876
SEXES_M	-1,4149	1,4378	-0,9841	0,3251	-4,2329	1,4031
GABARIT_1	-0,7509	1,3619	-0,5513	0,5814	-3,4202	1,9185
GABARIT_2	-0,2597	1,0288	-0,2525	0,8007	-2,2762	1,7567
DéLAI_COLLECTE_ANALYSE_C YTO__MIN	0,0211	0,0285	0,7386	0,4602	-0,0348	0,0770





Toulouse 2017

Nom : DAURIAC

Prénom : Eve

**TITRE** : Etude visant à évaluer les modifications du RPCU, de la cytologie et de la bactériologie dans les urines des chiens prélevées par miction spontanée après réfrigération

**RESUME** :

L'analyse d'urine est un examen complémentaire répandu est intéressant en médecine vétérinaire. En structure vétérinaire, la variabilité des délais nécessaires à la réalisation de ces analyses conduit généralement à un stockage temporaire des urines à 4°C. Si le délai de stockage des urines prélevées par cystocentèse a été étudié, peu d'information sur l'influence du délai de conservation sur des urines prélevées par miction spontanée sont disponibles. Le but de cette étude est d'étudier les effets d'un stockage d'urines de chiens à 4 °C pendant 4 et 24 heures sur le RPCU, la cytologie et la bactériologie urinaire. Les hypothèses de départ étaient que le RPCU ne serait pas affecté tandis que des modifications cytologiques et bactériologiques seraient mises en évidence. Soixante chiens ont été inclus dans l'étude et la durée de conservation à 4°C n'a été associée à aucune modification significative du RPCU, de l'analyse cytologique et de la culture bactériologique. Les résultats doivent cependant être interpréter avec précaution compte tenu du nombre relativement faible de chiens inclus.

**MOTS- CLEFS** : RPCU , BACTERIOLOGIE URINAIRE, CYTOLOGIE URINAIRE , CONSERVATION, FACTEURS PRE-ANALYTIQUE

---

**ENGLISH TITLE** : Effect of 4°C storage duration of canine free-catch urine samples on results for UPCR, cytological examination and bacterial culture.

**ABSTRACT** :

Urinalysis is an interesting procedure to screen/diagnose several disorders in veterinary medicine. Free-catch has been shown to be feasible and reliable when urinalysis is performed immediately and when few adjustments are made before interpretation. It is however unclear if free-catch urine samples can be stored at 4°C without affecting the results of complete urinalysis. Objective of this prospective preliminary study was to assess influence of a 4h- and a 24h-duration storage of canine free-catch urine samples on UPCR, cytological examination and bacterial culture. Our hypotheses were that UPCR would not be affected by storage duration, while cytological results and bacterial culture would significantly differ. Sixty dogs were included in this study and the results failed to demonstrate any significant influence of storage duration on urinalysis. However results should be interpreted cautiously as the small number of included dogs may explain the lack of significance of some of the results.

**KEYWORDS** : UPCR, URINARY BACTERIOLOGY, URINARY CYTOLOGY, STORAGE, PRE-ANALYTICAL FACTORS