● Méthode de mesure de l'acidité titrable

Les ions hydrogènes sont excrétés dans l'urine sous forme non détectable (HPO_4) par la simple mesure du pH mais détectable par la méthode de l'acidité titrable (Osborne et Stevens, 1999).

L'excrétion urinaire du phosphate monobasique entraîne l'élimination d'ions hydrogènes et la réabsorption du sodium et des bicarbonates. Le titrage de l'urine émise sur 24 heures avec une base standard (ou un acide) jusqu'à un pH de 7,4 permet de quantifier le nombre d' H^+ excrétés sous cette forme. C'est cela l'acidité titrable. Les ions hydrogènes associés à d'autres sels ne sont pas mesurés. L'acidité titrable se mesure par titrage d'une aliquote représentatif d'un échantillon urinaire prélevé sur 24 heures avec 0,1 ml d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium jusqu'à un pH de 7,4 indiqué par le pH mètre.

En général, on définit l'acidité titrable par le nombre de millilitres de NaOH ou d'acide chlorhydrique nécessaire pour neutraliser un échantillon prélevé sur 24 heures.

Cette acidité varie selon de nombreux facteurs, tout comme le pH (Osborne et Stevens, 1999).

● Variation de l'acidité titrable

Enfin, l'acide titrable est influencé par le phosphate, les bicarbonates, et l'ammoniac filtré. Elle peut également être modifiée par le régime alimentaire. Les régimes riches en acides aminés soufré (méthionine et cystine) engendrent une production d'urine acide car l'oxydation des sulfates neutres génèrent des ions hydrogènes et des ions sulfates.

Les régimes riches en légumes et fruits contiennent en général un excès d'anions libres (comme le lactate par exemple) qui fixent les ions hydrogènes lorsqu'ils sont catabolisés en dioxyde de carbone et en eau. Ils ont donc tendance à alcaliniser l'urine.

Enfin, une protéinurie va interférer plus ou moins avec l'acidité titrable à cause de la capacité tampon des protéines (Osborne et Stevens, 1999).

Malgré l'intérêt avéré de mesure l'acidité titrable de l'urine, en pratique courante, seul le pH urinaire est évalué à l'aide de bandelette urinaire.

c) Les bandelettes urinaires

Le pH urinaire peut facilement être déterminé par n'importe laquelle des nombreuses bandelettes réactives disponibles dans le commerce.

Ces bandelettes diagnostiques (Petstix TM, Multistix ®, et Chemstrip ®), qui mesure le pH ont une composition chimique très semblable. Chacune d'elle est imprégnée d'indicateur coloré. Petstix TM, Multistix ®, et Chemstrip ® contiennent du rouge de méthyl lequel vire au rouge en présence d'urine acide et au jaune en présence d'urine neutre ou basique et du bleu de bromothymol, qui vire au vert et au bleu en présence d'une urine basique et au jaune en présence d'une urine acide. L'intervalle de pH pouvant être lu par la bandelette va de 5 à 8,5 visuellement et de 5 à 9 à l'aide d'un analyseur.

Il est décrit que les bandelettes pour lecture avec un analyseur sous – estiment le pH en dessous de 6,5 (Osborne et Stevens, 1999). En revanche, une récente étude a prouvé qu'il y avait une bonne corrélation entre le pH lu sur la bandelette urinaire et celui donné par l'analyseur automatique de bandelette urinaire (Bauer *et al.*, 2008).

Cette étude a consisté à réaliser des examens urinaires de routine (mesure de densité urinaire, lecture de bandelette urinaire, et mesure du rapport Pu/Créatinine u) sur tous les chiens présentés en consultation de médecine ou de chirurgie dans une clinique vétérinaire en Allemagne. Les seuls critères d'inclusions de ces animaux étaient d'avoir un échantillon urinaire suffisant et frais de moins de 2 heures. Ensuite, 2 personnes expérimentées réalisaient l'analyse urinaire. Enfin, ils comparaient, entre autre, les résultats de la lecture de la bandelette urinaire avec ceux donnés par le lecteur automatique de bandelette. Leurs résultats montrent qu'il n'y a aucune différence en ce qui concerne les valeurs de pH urinaire. En revanche, on ne sait pas si les 2 lecteurs lisaient les bandelettes urinaires à autant de temps après recueil des urines et surtout il s'agissait de lecteurs expérimentés.

L'inconvénient des bandelettes urinaire est que lorsque l'urine est de couleur foncée, la couleur de la plage colorée du pH est modifiée par cette pigmentation. Dans ce cas, il est préférable de mesurer le pH à l'aide d'un pH mètre.

2.5.2.2 Interprétation des valeurs du pH

Chez les carnivores domestiques, le pH peut être compris entre 5 et 8,5 (Chew et Dibartola, 1986).

En effet, le rein ajuste le pH de l'urine en fonction de l'état acido-basique de l'organisme. Le pH de l'urine reflète l'état métabolique de l'organisme.

Pour que l'interprétation du pH soit censé, il est nécessaire de connaître le pH sanguin, la concentration sanguine en bicarbonate, et la réponse à l'administration de substances alcalinisantes et acidifiantes (Osborne et Stevens, 1999).

a) Un pH acide

Un pH acide peut être dû à une alimentation riche en viande, une acidose métabolique et respiratoire, un état de choc, des vomissements (perte de chlore), des diarrhées (perte de HCO_3^-), une céto-acidose lors de diabète sucré, de la fièvre ou un jeûne (Chew et Dibartola, 1986).

b) Un pH alcalin

Un pH alcalin peut être causé par une infection urinaire à bactérie uréase + (Proteus spp, Streptococcus spp, Klebsiella spp), un repas récent, une alcalose respiratoire et métabolique ou une acidose tubulaire rénale (perte de bicarbonate au niveau des tubules rénaux) (Chew et Dibartola, 1986).

Mais attention, il existe de nombreux artefacts qui agissent sur la valeur du pH. La contamination de l'urine par des bactéries productrices d'uréase provenant de l'urètre distal, de l'appareil génital ou de l'environnement peut provoquer une alcalinisation de l'urine. De même, une alcalinisation peut également se produire du fait du stockage des échantillons à température ambiante (par perte de CO_2) et cela après leur exposition à des détergents (Osborne et Stevens, 1999).

Après la détermination du pH par les bandelettes urinaires, ces dernières permettent l'évaluation de nombreux autres paramètres.

2.5.3 Les nitrites

Les nitrates sont des constituants normaux de l'urine et proviennent de l'alimentation. Normalement les nitrites, la forme réduite des nitrates ne se retrouve pas dans l'urine.

Par conséquent, leur présence indique une infection urinaire car les bactéries transforment le nitrate (NO₃⁻) pris par l'alimentation en nitrite (NO₂⁻). Mais attention, il y a beaucoup de faux positifs. En effet, cette plage apparaît positive dans moins de 50% des infections urinaires (Osborne et Stevens, 1999).

2.5.4 Les leucocytes

2.5.4.1 Indication et méthode de mesure

Un nombre significatif de leucocytes indique une lésion inflammatoire située dans l'appareil urinaire ou génital et qui est en contact avec l'urine (Chew et Dibartola, 1986).

Les bandelettes réactives aux leucocytes détectent la leucocyte-estérase se trouvant dans les granules cytoplasmiques dans les granulocytes.

Les tests de détection de cette activité leucocyte-estérase sont insensibles chez le chien. Il a été prouvé que les bandelettes à la leucocyte – estérase étaient spécifiques (93,2%) mais pas sensibles (46%) lorsqu'elles étaient utilisées pour rechercher une pyurie dans des échantillons urinaires de chien.

Les tests à la leucocyte-estérase sont positifs dans la plupart des échantillons urinaires félines qui ne contiennent pas de leucocytes. De ce fait les bandelettes à la leucocyte estérase ne permettent pas de diagnostic dans cette espèce. En revanche, les mécanismes associés aux résultats faux positifs de ce test chez le chat ne sont pas connus (Osborne et Stevens, 1999).

2.5.4.2 Interprétation

La détection de leucocytes est typiquement une indication d'une pathologie inflammatoire. Les leucocytes associés à un nombre de bactéries, de champignons, ou d'œufs de parasites suffisamment élevé pour être observés au microscope dans le sédiment urinaire indiquent qu'une lésion inflammatoire a été causée ou se complique d'une infection urinaire.

Avec une sensibilité faible et une spécificité forte, ils indiquent la présence ou pas d'une bactériurie. Chez le chat, cette valeur n'est pas fiable et la recherche de bactérie dans l'urine passe par un examen direct d'urine fraîche et par la réalisation d'un culot de centrifugation (Osborne et Stevens, 1999).

La présence de plus de 5 leucocytes par champs à fort grossissement est en général considéré comme anormale et est appelé pyurie. Cependant, le nombre total de leucocytes se trouvant dans l'urine est modifié par de nombreux facteurs y compris la méthode de conservation, le volume de l'échantillon et sa concentration, l'ampleur de la destruction des leucocytes après leur prélèvement, et la technique de détection.

Les leucocytes sont rapidement lysés dans une urine alcaline ou hypotonique. Ce phénomène peut produire un test à la leucocytostérase positif en l'absence d'une pyurie microscopique significative.

Le nombre des leucocytes urinaires peut être réduit si les patients ayant une pathologie inflammatoire de l'appareil urinaire reçoivent des corticoïdes, ou des anti-inflammatoires non stéroïdien (Osborne et Stevens, 1999).

2.5.5 Le glucose

2.5.5.1 Indication et méthode de mesure

Chez l'homme, il existe normalement une petite quantité de glucose dans les urines (2 à 10 mg/100ml). Cependant cette quantité est insuffisante pour être détectée par les tests habituels utilisés lors de l'analyse urinaire de routine.

La détection d'une glucosurie doit faire suspecter un état d'hyperglycémie (Diabète sucré) ou de normoglycémie (tubulopathie) qui peuvent être physiologique (hyperglycémie de stress chez le chat), pharmacologie ou pathologique (Osborne et Stevens, 1999).

Toute bandelette urinaire possède une plage de détection pour le glucose. Ces plages contiennent une glucose oxydase ou peroxydase qui réagit avec la présence de glucose et donne un changement de couleur lors de la réaction.

Bien qu'il y ait différents chromogènes selon les bandelettes urinaires utilisées (l'iodure de potassium pour le Mutistix ®, le tétraméthyl de benzidine pour le Chemstrip ®), l'intensité et la nuance des couleurs sont grossièrement proportionnelles à la quantité de glucose dans les urines. L'enzyme glucose oxydase réagit spécifiquement avec le glucose. Cependant, les tests possèdent des indicateurs colorimétriques qui peuvent inhiber la réaction du test. De plus, les résultats des tests peuvent être influencés par la température. Les échantillons réfrigérés doivent être remis à température ambiante avant leur examen pour la recherche de glucose. Le temps de réaction enzymatique est de 10 secondes.

Par ailleurs, des produits de nettoyage oxydants peuvent entraîner des glycosuries faussement positives. Enfin, la sensibilité de ces tests à la glucose oxydase peut être influencée par la détérioration du réactif et aussi par d'autres facteurs (Osborne et Stevens, 1999).

Bien évidemment, comme tout test semi-quantitatif, l'interprétation reste « clinicien dépendant »

2.5.5.2 Interprétation

Pour l'interprétation, il est important de prendre en compte le fait que de faux positifs peuvent avoir lieu si l'échantillon est contaminé par de petite quantité de peroxyde d'hydrogène. De la même manière, des réactifs périmés ou exposés à la lumière peuvent donner des résultats erronés. Des concentrations modérément élevés en corps cétoniques (40mg/dl) peut engendrer de faux négatifs dans un échantillon contenant de faible quantités de glucose (75 à 125 mg/dl). Il a également été décrit que de grande quantité de bilirubine inhibaient le Clinistix ® et que la réactivité des plages réactives au glucose du Multistix ® peut diminuer avec l'augmentation de la densité (Osborne et Stevens, 1999).

L'utilisation des bandelettes urinaires lors de l'analyse urinaire de routine permet de mettre en évidence une glycosurie. Cette dernière peut être physiologique, pharmacologique ou pathologique.

2.5.6 Les corps cétoniques

2.5.6.1 Indications et méthode de mesure

Les corps cétoniques sont l'acide acéto-acétique, l'acétone et l'acide bétahydroxybutyrique. Cependant d'autres corps cétoniques peuvent être retrouvés dans l'urine.

La recherche de corps cétoniques dans l'urine chez les patients atteints de diabète est particulièrement important car la cétonurie diabétique suggère le développement d'un diabète acido-cétosique.

La physiologie de la cétonurie peut être classée comme suit :

-une baisse de la capacité à utiliser les glucides disponibles (diabète sucré)

-une consommation inadaptée de glucides (anorexie, modification de régime, exercices exténuateurs, exposition à un environnement froid)

-une perte de glucides (trouble tubulaire rénaux, et troubles digestifs)

La recherche des corps cétoniques en fin de gestation peut favoriser la détection d'une toxémie de gestation et d'une nutrition inadaptée lors de diabète sucré de gestation.

La plupart des tests utilisés lors de l'examen urinaire de routine (bandelette urinaire), sont basés sur la réaction de l'acide acéto-acétique et de l'acétone avec le nitroprussiate dans un environnement basique qui produit un composé coloré violet intense.

Petstix TM, Multistix ®, Ketostix ®, Labstix ® et Chemstrip ® contiennent des plages réactives imprégnées de nitroprussiate de sodium, de glycine et d'un tampon phosphate basique. Le tampon fournit le pH optimal de la réaction. La réaction ne détecte pas l'acide bêta-hydroxybutyrique et est beaucoup plus sensible à l'acide acétique qu'à l'acétone.

Après immersion de la bandelette urinaire dans l'urine, il est important d'examiner la couleur de la plage réactive au bon moment. En effet, le temps de réaction varie selon les bandelettes utilisées. Des modifications de couleur allant du chamois (beige) au violet indiquent une cétonurie. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de cétones présente (Osborne et Stevens, 1999). Comme pour tout examen de la bandelette urinaire, on peut suggérer que l'interprétation de la plage peut être « clinicien dépendant ». Afin de s'affranchir de ce biais, on peut utiliser des lecteurs automatiques de bandelette urinaire. Une récente étude a prouvé que l'interprétation donnée par 2 vétérinaires concordait avec les résultats de l'automate. Cependant cette étude fut réalisée par 2 lecteurs expérimentés (Bauer *et al.*, 2008). Cette étude révèle les mêmes résultats pour le pH, le glucose, la bilirubine, les protéines et le sang.

2.5.6.2 Interprétation

Tout d'abord, étant donné que l'acétone se volatilise à température ambiante, il est important de tester immédiatement les échantillons ou de les réfrigérer.

La partie cétonique de la bandelette urinaire est sensible aux effets de l'humidité, de la chaleur ou de la lumière. Le bouchon du tube à bandelette doit donc être remis juste après s'être servi pour réduire au maximum les faux négatifs.

Les fabricants indiquent que la limite inférieure de sensibilité de ces tests est de 5 à 10 mg/dl pour l'acide bêta-hydroxybutyrique et 70 mg/dl pour l'acétone.

La cétonurie est rare chez les chiens (1,9%), et chez le chat (2,6%).

Normalement ils sont absents dans l'urine. Mais, on peut les y retrouver dans de nombreuses situations.

Le diabète sucré non contrôlé est la forme la plus souvent rencontrée de cétonurie chez les chiens et les chats. L'excrétion urinaire des cétones induit la perte systémique des électrolytes, ainsi qu'une hypokaliémie et hyponatrémie. La perte du sodium, potassium et cétone dans l'urine contribue à une augmentation de l'osmolarité urinaire due à la présence de glucose et de ce fait augmente l'importance de la polyurie associée au diabète.

Le jeun et les repas à faible teneur glucidique et riche en graisse peuvent aussi induire une cétonurie. Après le jeun, les animaux immatures risquent plus que les adultes de développer une cétonurie.

Enfin, un exercice peut même être suivi d'une cétonurie positive (Chew et Dibartola, 1986).

2.5.7 Erythrocytes, hémoglobine, myoglobine

2.5.7.1 Indication et méthode de mesure

Les tests de détection du sang dans les urines ont pour but de rechercher des concentrations d'hématie, d'hémoglobine, ou de myoglobine qui ne sont pas visible à l'œil nu.

Ces tests peuvent aider à identifier la cause d'une coloration anormale de l'urine. La présence ou l'absence d'hématie, d'hémoglobine ou de myoglobine peut avoir un intérêt pour localiser l'origine d'une protéinurie.

Comme l'examen microscopique du sédiment ne permet pas de détecter l'hémoglobine libre s'échappant des hématies lysées, le fait de se fier totalement à l'examen du sédiment pour la semi-quantification de l'hématurie pourra entraîner une sous-estimation grossière de l'importance de l'hématurie.

Ces tests peuvent faciliter la différenciation entre une micro-hématurie, et une hémoglobinurie ou une myoglobinurie par des moyens chimiques. Ils peuvent également aider à évaluer l'importance des lésions musculaires associées à la libération de la myoglobine (Osborne et Stevens, 1999).

Les tests habituels dépendent de la détection de l'activité pseudoperoxydase de la partie hème de l'hémoglobine et de la myoglobine dans l'urine.

Les composés de type porphyrine contenant du fer, appelés hème, agissent comme une peroxydase dans un environnement tamponné avec divers peroxydes comme substrats pour catalyser l'oxydation des substances du test. La substance du test développe diverses nuances de couleur d'intensité variable selon le réactif, la concentration de l'hème ou d'autres peroxydases et d'autres substances colorantes, et selon la présence ou l'absence d'inhibiteurs. La myoglobine et l'hémoglobine vont entraîner une réaction positive. Pour les tests de dépistage, les examens devront être réalisés sur des échantillons bien mélangés et non centrifugés.

Les bandelettes urinaires (Petstix TM, Hémostix ®, Multistix ®) peuvent donner des résultats positifs avec l'hémoglobine libre, la myoglobine ou encore la lyse de nombreuses hématies.

2.5.7.2 Interprétation

a) Faux positifs et Faux négatifs

◆ Faux positifs

Les enzymes comme les peroxydases bactériennes, leucocytaires, épithéliales et des spermatozoïdes peuvent potentiellement être la cause de résultats faux positifs, mais cela est peu vraisemblable.

La contamination de l'urine par une grande quantité d'iode ou de bromure est également une cause potentielle mais rare de faux positifs.

De la même manière, la contamination de l'urine par des agents oxydants contenus dans les désinfectants peut engendrer des faux positifs.

De plus, des concentrations en bilirubine supérieur à 8 mg/dl chez le chien provoquent une hématurie faussement positive (Osborne et Stevens, 1999).

◆ Faux négatifs

Etant donné que la sédimentation des hématies dans l'urine est rapide, cela peut expliquer la disparité entre l'examen du sédiment urinaire et les résultats de la bandelette urinaire.

Les bandelettes Multistix ® peut permettre la différenciation entre l'hémoglobine et les hématies intactes. Chemstrip ® permet de faire la différence entre un nombre faible, modéré et élevé de globules rouges et d'hémoglobinurie.

b) Rappel physiologique des hématies, de l'hémoglobine et de la myoglobine

◆ Hématies

Quelques hématies sont souvent présentes dans l'urine des chiens et des chats en bonne santé. Chez l'homme on accepte au maximum 5 hématies par microlitre ; c'est la microhématurie physiologique (Osborne et Stevens, 1999).

Pendant aucune détermination similaire n'a été établie chez les carnivores domestiques. Une hématurie est un indicateur non spécifique des maladies du tractus urinaire (Chew et Dibartola, 1986).

◆ Hémoglobine

Toute hémolyse intra-vasculaire entraîne la libération d'hémoglobine libre dans le plasma. L'hémoglobine se fixe avec l'haptoglobine pour former un complexe. Cette fixation est variable. Une fois que l'haptoglobine est saturée, l'hémoglobine tétramérique libre apparaît dans le sang et est excrétée dans l'urine.

L'hémoglobine libre, le complexe hémoglobine haptoglobine, les sous unités d'hémoglobine et la bilirubine contribuent à la couleur du plasma.

L'hémoglobine est récupérée et métabolisée par les cellules tubulaires proximales rénales. Ce mécanisme contribue à la bilirubinurie et diminue la concentration urinaire en hémoglobine.

Ce n'est que lorsque le mécanisme d'absorption tubulaire rénal est saturé que l'hémoglobine apparaît dans l'urine entraînant une hémoglobinurie.

De grandes quantités d'hémoglobine libre peuvent aussi s'échapper dans l'urine si un nombre significatif d'hématies subit une lyse dans les voies excrétrices. Par exemple, il se produit une hémolyse lorsque la densité est inférieure ou égale à 1,008. Les urines basiques contribuent également à la lyse des hématies in vivo et in vitro (Osborne et Stevens, 1999).

Une hémoglobinurie non urinaire est engendrer par une hémolyse et donc à une hémoglobinémie. Les causes d'hémolyse sont nombreuses. Il peut s'agir d'une hémolyse d'origine infectieuse (Erlichiose, Piroplasmose, Hémobartonellose), auto-immune ou à médiation immune (Chew et Dibartola, 1986).

◆ Myoglobine

La myoglobine est le pigment musculaire porteur d'oxygène. Bien qu'elle soit semblable à l'hémoglobine, elle présente certaines différences quant à ses propriétés physiques, chimiques, et immunologiques. Une myoglobinémie suffisamment importante pour permettre la détection d'une myoglobinurie est anormale. Ceci est la conséquence d'une nécrose des cellules musculaires ou rhabdomyolyse d'origine traumatique, toxique ou ischémique.

Du faite de ces caractéristiques moléculaires, la myoglobine traverse facilement la paroi des capillaires glomérulaire. Puis elle est rapidement éliminée par le rein. Elle ne fixe aucune protéine plasmatique (Osborne et Stevens, 1999).

2.5.8 Bilirubine

2.5.8.1 Indication et méthode de mesure

a) Rappel physiologique sur la bilirubine

◆ Origine

La bilirubine provient de la dégradation de l'hème de l'hémoglobine des cellules réticulo-endothéliale de l'organisme. Des quantités plus faibles proviennent de sources non érythroïdes du foie, de sources péri-érythroïde de la moelle osseuse, du métabolisme de la moelle osseuse et d'autres protéines contenant un noyau hème comme la myoglobine. Une fois transformé en bilirubine, cette dernière est transportée via le sang jusqu'au foie fixée à l'albumine car elle est insoluble dans l'eau. Arrivée au foie, elle est conjuguée avec le glucuronide et excrétée dans la bile.

◆ Elimination

La bilirubine conjuguée est hydrosoluble et passe facilement le glomérule. Seule la bilirubine conjuguée apparaît alors dans l'urine. Une grande partie de la bilirubine conjuguée est transportée dans le tube digestif par la bile. Cependant, une petite quantité s'échappe du foie et passe directement dans le système vasculaire (Chew et Dibartola, 1985). C'est de cette manière que l'urine passe le glomérule sanguin. Le seuil rénal pour la clairance de la bilirubine conjuguée varie selon l'espèce.

Chez le chien, lors d'affection hépatique, la bilirubine peut être détectée dans l'urine avant son élévation dans le sérum. Il n'est pas rare de trouver des traces de bilirubine dans des urines très concentrées de chien et souvent chez les animaux non castrés. En effet, en plus de la filtration glomérulaire simple, les reins du chien produisent de la bilirubine et la font apparaître dans l'urine (Osborne et Stevens, 1995).

En ce qui concerne le chat, aucune trace de bilirubine n'est retrouvée dans l'urine chez l'individu sain (Chew et Dibartola, 1986). Par conséquent, toute trace de bilirubine dans l'urine des chats est pathologique.

L'intérêt de l'analyse urinaire pour la détection de la bilirubine est que la bilirubinurie précède l'ictère, et cela qu'il soit d'origine pré-hépatique, hépatique ou post-hépatique. Néanmoins, l'absence de bilirubinurie n'exclue pas l'absence de troubles associés au mécanisme de la bilirubine (Osborne et Stevens, 1999).

b) Intérêt de la recherche de bilirubinurie

De nombreuses pathologies peuvent entraîner une production anormale de bilirubine non conjuguée et/ou conjuguée.

Une augmentation de la production de bilirubine non conjuguée peut avoir lieu lors de destruction anormale des hématies (infectieuse ou auto-immune), d'une affection hépatocellulaire (tumeur hépatique, hépatite), et lors d'une obstruction des canaux biliaire (boue biliaire, mucocoele).

La détection de bilirubine dans l'urine est permise par l'utilisation de bandelettes urinaires.

c) Méthode de mesure

Les bandelettes urinaires (Petstix TM, Multistix ®) présentent une plage de détection de la bilirubine qui contient de la 2,4-dichloroaniline diazotée stabilisée. En présence de bilirubine en quantité suffisante, il se produit une réaction formant de l'azobilirubine entraînant une modification de couleur allant du chamois au brun clair ou marron clair. Bien évidemment, l'importance de la modification de couleur dépend de la quantité de bilirubine urinaire. La bilirubine conjuguée réagit beaucoup plus avec ces réactifs que la bilirubine libre. La bilirubine libre ne peut donc pas être détectée par cette méthode. Cependant, la quantité de bilirubine libre portée par l'albumine est insignifiante sauf si la concentration en bilirubine est extrêmement haute et que l'albuminémie est extrême.

La biliverdine, elle, ne peut être détectée par la bandelette urinaire. Or, la bilirubine est un composé instable qui peut s'oxyder en biliverdine si elle est laissée à température ambiante.

De la même manière, le glucuronide de bilirubine s'hydrolyse spontanément en bilirubine libre dans l'urine laissée longtemps à température ambiante. Il est donc important d'examiner des échantillons urinaires fraîchement prélevés ou correctement conservés. La lumière dégrade également la bilirubine.

L'urine ne doit pas être filtrée ni centrifugée avant d'être examinée pour rechercher la bilirubine car les précipités de carbonate de calcium et de phosphate de calcium peuvent absorber des quantités variables de bilirubine (Osborne et Stevens, 1999).

2.5.8.2 Interprétation

a) Chez le chien

Chez le chien, on peut retrouver une faible quantité de bilirubine dans l'urine à l'état normale. Ceci est attribué au catabolisme de l'hémoglobine par le rein et à l'excrétion qui s'ensuit de bilirubine conjuguée dans les urines (Osborne et Stevens, 1999).

b) Chez le chat

La bilirubinurie chez le chat est rare. Elle n'est pas observée chez les animaux en bonne santé.

Lorsqu'elle est détectée par l'analyse urinaire de routine, d'autres examens complémentaires doivent être entrepris.

La détection d'une bilirubinurie dans les échantillons urinaires moins concentrés ou une bilirubinurie persistante doivent faire envisager un trouble du métabolisme biliaire pré-hépatique, hépatique ou post-hépatique (Osborne et Stevens, 1999).

L'utilisation de la bandelette urinaire dans le cadre de la détection de la bilirubinurie peut être très utile pour prévenir des maladies très fréquentes en médecine des carnivores domestiques : les affections hépatiques. De plus, un autre métabolite de la bilirubine peut être détecté dans l'urine : l'urobilinogène.

2.5.9 Urobilinogène

2.5.9.1 Indication et méthode de mesure

L'urobilinogène est un métabolite tétrapyrrolique incolore de la bilirubine, produit par l'action des bactéries anaérobies. Chez l'homme, ce test permet la détection de troubles hépatiques, de maladies hémolytiques, et une anomalie de perméabilité des canaux biliaires. Chez les carnivores domestiques, aucune étude n'a prouvée l'intérêt de cet examen lors de l'analyse urinaire de routine. Mais la plage de colorimétrie est présente dans les bandelettes urinaires utilisées en pratique courante (Osborne et Stevens, 1999).

Les tests sur les bandelettes réactives (Multistix[®]) sont basés sur la modification de la réaction standard aldéhyde d'Ehrlich. La zone réactive contient de paradiméthylaminobenzaldéhyde tamponné lequel réagit avec l'urobilinogène pour former un produit de couleur rose-rouge.

Mais, attention, l'urobilinogène peut se transformer en urobiline dans l'urine acide ou si elle est exposée à la lumière après son prélèvement (Osborne et Stevens, 1999).

2.5.9.2 Interprétation

Lors de l'interprétation de la coloration de la bandelette, il est important de prendre en compte certains pièges. Par exemple, les métabolites normalement présents en quantité variables dans l'urine peuvent engendrer des faux positifs. D'autre part, l'oxydation de l'urobilinogène dans les échantillons urinaires anciens peut inhiber ou réduire les réactions positives. Une concentration suffisante de nitrite va diminuer ou inhiber la réaction du fait

de l'oxydation de l'urobilinogène en urobiline. L'urobiline ne réagit pas avec ces réactifs pour produire la modification la modification de couleur caractéristique.

L'excrétion rénale de l'urobilinogène est ph dépendante. Son excrétion augmente dans l'urine dans les urines alcalines et lors d'administration de produit alcalinisant comme le bicarbonate de calcium. L'administration d'antibiotique peut réduire la population de bactéries intestinales et interférer ainsi avec la conversion de la bilirubine en urobilinogène (Osborne et Stevens, 1999).

L'examen biochimique des urines en consultation de routine offre de nombreuses informations sur les affections éventuelles dont peut souffrir l'animal. Cependant certains paramètres restent à confirmer : l'hématurie, l'infection urinaire et bien d'autres.

Une fois l'examen chimique de l'urine réalisé, l'examen microscopique des urines peut alors être envisagé, et particulièrement la recherche d'une cristallurie.

2.6 Evaluation des éléments figurés de l'urine

2.6.1 Indications

L'interprétation de la couleur, de la densité, de la transparence urinaire, de la protéinurie, de l'hématurie et du pH des analyses urinaires de routine, est améliorée par la connaissance de la composition du sédiment urinaire.

Par exemple, une protéinurie modérée en l'absence d'un nombre significatif d'hématies et de leucocytes indique en général une protéinurie d'origine glomérulaire.

A l'inverse, une protéinurie modérée associée à une hématurie et à une pyurie indique une réponse inflammatoire dans l'appareil urinaire ou génital.

Si on détecte une protéinurie sans savoir s'il y a ou non une hématurie ou une pyurie, on peut supposer à tort que la protéinurie est due à des lésions glomérulaires ou tubulaires.

L'examen du sédiment urinaire est particulièrement important pour détecter les cristaux, les bactéries, les leucocytes, divers types de cellules épithéliales, des cylindres, des levures et des parasites. Ces éléments ne peuvent être détectés avec fiabilité par les bandelettes.

Les caractéristiques morphologiques des cellules, des cylindres, des cristaux et des bactéries fournissent des informations intéressantes mais ne permettent pas souvent d'établir un diagnostic spécifique. Bien qu'il soit possible d'établir l'existence d'une maladie en se basant sur des résultats positifs, l'état pathologique ne peut pas toujours être

exclu du fait de résultats négatifs. C'est pour cette raison que l'examen du sédiment urinaire doit être interprété en prenant compte des résultats biochimique et physique de l'analyse urinaire (Osborne et Stevens, 1999). Nous nous attarderons principalement à l'étude des cellules et des cylindres retrouvés dans le sédiment urinaire.

2.6.2 Les cellules

Les cellules épithéliales pouvant être vues sont les cellules rénales (arrondis, au noyau parfois rond, parfois en anneau), les cellules du col vésical, de l'urètre ou du tractus génital lesquelles sont squameuses ou pavimenteuses. Parfois on peut observer des cellules dites transitionnelles ; des cellules vésicales ou tumorales lesquelles sont dur à différencier.

2.6.2.1 Les différents types de cellules épithéliales

Les cellules épithéliales tubulaires rénales proviennent des tubules rénaux. Leur taille est variable ; 10 à 50 μm . Elles sont rondes et possèdent un noyau central sphérique de grande taille avec un cytoplasme granuleux (Osborne et Stevens, 1999).

Les cellules épithéliales transitionnelles ou cellules urothéliales ont une taille fortement variable selon leur profondeur d'origine sur l'épithélium transitionnel. Leur taille varie de 20 à 40 μm . L'origine de ces cellules dans l'urine est une inflammation. En effet, elles desquament souvent en grand nombre lors d'inflammation et peuvent être hyperplasiques. Étant donné que ces cellules absorbent l'eau, elles peuvent devenir aussi grandes que des cellules épithéliales squameuses (Osborne et Stevens, 1999).

Les cellules épithéliales squameuses sont les cellules les plus grandes (environ 50 μm) présentes dans le sédiment urinaire normal. Elles sont en forme de disque, fines et aux contours distincts ou irréguliers. Parfois elles peuvent prendre une forme pliées avec une forme tubulaire, ressemblant ainsi à des cylindres.

Les cellules épithéliales néoplasiques peuvent être observées dans le sédiment urinaire de patient atteint de carcinome transitionnel de la vessie. Leur observation est favorisée par un examen réalisé sur des urines fraîchement émises et colorées.

Les échantillons urinaires prélevés par sondage ont plus de chance de contenir des cellules néoplasiques que ceux obtenus par miction spontanée.

2.6.2.2 Signification de la présence de ces cellules épithéliales

Les cellules épithéliales cuboïdes provenant des tubules rénaux, les cellules épithéliales transitionnelles issues du bassinet rénal, des uretères, de la vessie et de l'urètre, ainsi que les cellules squameuses provenant du vagin et de l'urètre distal, sont habituellement détectées dans le sédiment urinaire des chiens et chats normaux.

On pense qu'elles proviennent de l'usure normale et de l'exfoliation des cellules épithéliales.

En revanche il n'existe aucune donnée précise sur le nombre de cellules épithéliales normalement présente dans l'urine des carnivores domestiques.

2.6.3 Les cylindres

2.6.3.1 Définition et formation

Les cylindres sont formés principalement d'une matrice mucoprotéique ; la mucoprotéine de tamm-Horsfall. Cette protéine est sécrétée localement par les cellules épithéliales qui tapissent l'anse de Henlé, les tubules distaux et les tubes collecteurs (Chew et Dibartola, 1986).

Il existe une théorie très répandue qui se base sur la supposition que tout matériel présent à l'intérieur de la lumière tubulaire au moment où la mucoprotéine de Tamm-Horsfall forme des fibrilles, est incorporé dans le liquide tubulaire. Il a été également émis l'hypothèse que les cylindres pouvaient également se former par agglutination de cellules et/ou de débris dans la lumière tubulaire. En effet, des études de l'ultrastructure de surface des cylindres en microscopie électronique ont montré la présence d'érythrocytes, de leucocytes, et de cellules épithéliales (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres sont un moulage de la forme de la lumière tubulaire. Leur forme et longueur est donc variable. Les cylindres sont plus rarement observés dans l'urine basique et une centrifugation à haute vitesse peut rompre les cylindres fragiles. Les cylindres sont souvent classés en fonction de leur aspect et structure (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres hyalins sont principalement composés de la mucoprotéine de Tamm-Horsfall. Ils ne contiennent aucune inclusion ou très peu. Ils sont en général incolores, homogènes et semi-transparents. Sous la coloration de Sternheimer-Malbin, ils apparaissent rose-rouge. Apparemment, les cylindres hyalins peuvent se transformer en cylindres cireux (Osborne et Stevens, 1999).

2.6.3.2 Les différents types de cylindre

Une hypothèse non fondée suggère que les cylindres épithéliaux, graisseux, granuleux et cireux représentent divers stades de dégénérescence des cellules épithéliales contenues dans les cylindres (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres hyalins sont principalement composés de la mucoprotéine de Tamm-Horsfall. Ils ne contiennent aucune inclusion ou très peu. Ils sont en général incolores, homogènes et semi-transparents. Sous la coloration de Sternheimer-Malbin, ils apparaissent rose-rouge. Apparemment, les cylindres hyalins peuvent se transformer en cylindres cireux (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres épithéliaux, graisseux, granuleux et cireux représentent divers stades de dégénérescence des cellules épithéliales contenues dans les cylindres (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres épithéliaux contiennent de nombreuses cellules épithéliales tubulaires. Ces dernières peuvent être localisées au hasard dans la matrice ou être alignées comme elles l'étaient avant sur la membrane basale (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres graisseux sont composés de gouttelles graisseuses. Ces éléments proviennent des lipides qui s'accumulent dans le cytoplasme des cellules avant leur desquamation dans la lumière tubulaire. La coloration au Soudan III permet de mettre en évidence la présence de ces lipides (Osborne et Stevens, 1999).

La poursuite de la dégénérescence des composants des cellules épithéliales entraîne la formation de masse incolore homogène aux limites anguleuses et ayant un aspect cireux. On les appelle les cylindres cireux (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres hématiques apparaissent lors d'hémorragie dans les tubules rénaux. Ils sont très fragiles et de couleur jaune orange à rouge-orange. Cependant leur couleur peut s'estomper avec le temps et les hématies se désintégrer (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres à hémoglobine peuvent être observés après une hémolyse intra-vasculaire sévère et une hémoglobinurie. Ils sont jaunes à bruns. Les cylindres à myoglobine peuvent être associés à une myoglobinurie et ressemblent aux cylindres à hémoglobine (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres leucocytaires composés de leucocytes et d'une matrice mucoprotéique de Tamm-Horsfall, apparaissent lorsque les tubules et l'interstitium sont impliqués dans le processus inflammatoire. Si les leucocytes dégénèrent avant l'examen, un cylindre granuleux peut se former (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres à bilirubine sont homogènes et contiennent de la bilirubine jaune à brun-doré (Osborne et Stevens, 1999).

2.6.2.3 Signification de la présence des cylindres

Les cylindres urinaires ont tendance à se former lorsque la concentration de soluté est forte, le débit urinaire faible et l'acidité élevée. On accepte 2 à 5 cylindres hyalins par champs, et 1 cylindre granuleux par champs (Chew et Dibartola, 1986).

Bien que la présence de cylindres indique certaines modifications pathologiques dans les tubules rénaux, ces altérations peuvent être mineures, transitoires ou réversibles. De plus, l'absence de cylindre n'exclue pas une pathologie tubulaire rénale.

Le nombre de cylindre n'est pas un indice fiable de la gravité, de la durée ou de la réversibilité de la maladie sous-jacente. Un nombre important de cylindre indique toujours une néphropathie active généralisée, en générale aigüe mais pouvant être réversible (Osborne et Stevens, 1999).

Les cylindres hyalins sont en général associés à une protéinurie d'origine rénale ou pas. Ils peuvent être présents lors de pathologie légère ou pas (Osborne et Stevens, 1999).

Ces cylindres peuvent être associés à des pathologies provoquant une dégénérescence et une nécrose des cellules épithéliales tubulaires (infarctus, ischémie, néphrotoxines).

Contrairement, aux rapports précédemment écrits, les cylindres cireux ne sont pas toujours observés chez les patients atteints d'amyloïdose (Osborne et Stevens, 1999).

2.7 Evaluation de la cristallurie

2.7.1 Définition

Beaucoup de molécules sont susceptibles de cristalliser dans l'urine en fonction de leur concentration, du pH, de la présence ou non d'acteur de la cristallisation, et de la présence de germe.

La cristallurie regroupe les cristalloïdes présents dans l'urine. Lorsqu'ils sont présents en grande quantité, les cristalloïdes s'organisent en concrétion polycristalline : les lithiases urinaires (Chew et Dibartola, 1986). L'observation au microscope du sédiment urinaire permet donc d'estimer le risque de lithiase urinaire ainsi que leur composition. Néanmoins, l'interprétation de cette cristallurie reste très délicate : il existe de nombreux types de cristaux chez les carnivores domestiques et, leur présence n'est pas forcément pathologique.

2.7.2 Interprétation

L'interprétation de la cristallurie commence par l'identification du type de cristaux présents. Les cristaux les plus représentés chez les carnivores domestiques sont composés de phosphate ammoniaco-magnésien. Ils représentent 60% des cristaux chez le chien contre 45 % chez le chat. Microscopiquement, les cristaux de PAM sont caractérisés par une forme prismatique. Ils sont encore appelés struvite. Ils sont dits « pathologiques » au-delà de 5 cristaux par champs.

Ces cristaux doivent absolument être différenciés microscopiquement des cristaux d'oxalate de calcium, les deuxièmes cristaux les plus fréquents. Mais attention, ces deux types de cristaux peuvent être observés si l'urine étudiée n'a pas été bien conservée. En effet, les minéraux présents naturellement dans l'urine et dissout, peuvent cristalliser à température ambiante (Osborne *et al.*, 1999).

D'autres cristaux plus rares peuvent être mis en évidence à l'examen microscopique du sédiment urinaire. Les cristaux d'urates d'ammonium sont spécifiques du Dalmatien ou présents lors de dysfonctionnement hépatique (Jungers *et al.*, 1999 ; Cotard, 2001 ; Houston et Moore, 2009). Les cristaux de cystine, eux, sont systématiquement

pathologiques. On les retrouve lors de défaut de réabsorption de la cystine au niveau du tube contourné proximal (Cotard, 2001 ; Houston et Moore, 2009).

De nombreux facteurs sont à prendre en considération lors de l'interprétation du sédiment urinaire. Tout d'abord, une cristallurie importante n'est pas forcément à l'origine de calcul urinaire (Stevenson, 2003).

D'autre part, la cristallurie est directement dépendante de l'alimentation. Un régime à faible teneur en humidité et en sodium, et une forte teneur en protéine augmente le risque de cristaux d'oxalate (Lekcharoensuk *et al.*, 2002). Une déshydratation, une stase prolongée de l'urine dans la vessie (mode de vie à l'intérieur) sont également des facteurs favorisant ces cristaux.

Enfin, l'administration de médicament qui modifie le pH urinaire, la réabsorption ou la sécrétion tubulaire ou qui peut précipiter comme les sulfamides, peut engendrer l'apparition de cristaux (Osborn *et al.*, 1999).

Après avoir mis en évidence une cristallurie, il est donc important de l'analyser en prenant compte du mode de vie de l'animal, de son alimentation et de la conservation du prélèvement urinaire avant l'analyse.

L'examen urinaire de routine peut donc s'avérer très utile dans le cadre de la détection de certaines pathologies urinaire et/ou systémique.

De plus, il nécessite uniquement l'utilisation d'un réfractomètre, de bandelettes urinaires, d'un microscope, de lame et lamelle et de colorants. Les urines prélevées à n'importe quel moment peuvent donc être adaptées aux analyses de dépistage. Cependant, la composition de l'urine peut varier considérablement au cours de la journée. Les échantillons prélevés au hasard peuvent ne renfermer que ce que la vessie a accumulé dans sa lumière depuis quelques minutes ou être un mélange d'urine formée depuis plusieurs heures. L'examen urinaire sur les urines de 24 heures ne serait-il donc pas plus approprié ?