



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/19693>

To cite this version:

Diemer, Margaux. *Etude visant à préciser l'influence du mode de collecte des urines sur leur analyse physico-chimique et cytologique chez le chien*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2017, 82 p.

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

ETUDE VISANT A PRECISER L'INFLUENCE DU MODE DE COLLECTE DES URINES SUR LEUR ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE ET CYTOLOGIQUE CHEZ LE CHIEN

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

DIEMER, Margaux
Née, le 16/09/1992 à SCHILTIGHEIM (67)

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**, *Zootecnie*
- 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

A Madame la professeure Monique Courtade-Saïdi,

Professeure anatomiste et cytologiste pathologique au CHU de Toulouse, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

Hommages respectueux

A Madame la Docteur Rachel LAVOUE,

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, médecine interne, pour m'avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail, pour votre patience, votre soutien et vos nombreux conseils durant l'élaboration de ma thèse.

Mes remerciements les plus sincères et respectueux.

A Madame la Professeure Catherine TRUMEL,

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, pour me faire l'honneur de faire partie de ce jury, pour votre intérêt pour ce travail.

Tous mes remerciements.

A Monsieur le Docteur Romain Huve,

Résident en Médecine interne au CHUV de Montréal, pour sa grande contribution à l'élaboration du protocole expérimental, pour sa disponibilité et son aide au cours de ce travail.

Qu'il trouve ici toute l'expression de ma reconnaissance

Au personnel du laboratoire de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Sans qui ce travail n'aurait pu être mené à bien.

Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

Introduction..... p.7

PARTIE A : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE Influence de la phase pré-analytique sur les résultats de l'analyse urinaire..... p.9

I. Influence du statut de l'animal lors du prélèvement sur les résultats de l'analyse d'urine..... p.11

I.1. Influence de l'heure de prélèvement sur les résultats de l'analyse d'urine..... p.11

I.1.1. Protéinurie et RPCU..... p.11

I.1.2. Densité urinaire et osmolarité..... p.12

I.2. Influence de l'alimentation sur les résultats de l'analyse d'urine..... p.12

I.2.1. pH urinaire..... p.12

I.2.2. Protéinurie et RPCU..... p.14

I.2.3. Densité et osmolarité urinaire..... p.14

I.3. Influence du stress sur les résultats de l'analyse d'urine..... p.15

II. Influence du mode de prélèvement sur les résultats de l'analyse d'urine..... p.16

II.1. Bactériurie..... p.16

II.2. Hématurie..... p.22

II.3. RPCU..... p.22

II.4. Albumine, retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl- β -D-glucosaminidase urinaires..... p.24

III. Influence de la méthode de conservation du spécimen sur les résultats de l'analyse d'urine..... p.25

III.1. Bactériurie..... p.25

III.1.1. Influence de la durée et température de conservation..... p.25

III.1.2. Influence de la conservation à l'acide borique..... p.26

III.2. Densité urinaire et formation de cristaux..... p.29

III.3. Influence de la congélation sur le sédiment urinaire..... p.30

<u>III.4. Protéines et enzymes urinaires : albumine, rétinol-binding-protein (RBP) et N-acteyl-β-D-glucosaminidase (NAG)</u>	p.31
---	-------------

III.4.1. Influence de la température au cours du temps sur leur concentration ou activité.....	p.31
--	-------------

III.4.2. Influence de l'inhibiteur de protéase sur leur concentration ou activité.....	p.32
--	-------------

PARTIE B : ETUDE EXPERIMENTALE <i>Étude visant à préciser l'influence du mode de collecte des urines sur leur analyse physico-chimique et cytologique chez le chien</i>	p.33
--	-------------

<u>I. Matériel et méthode</u>	p.35
--	-------------

<u>I.1. Animaux / Spécimens</u>	p.35
---------------------------------------	-------------

I.1.1. Critères d'inclusion.....	p.35
----------------------------------	-------------

I.1.2. Critères d'exclusion.....	p.35
----------------------------------	-------------

I.1.2.1. Exclusion initiale.....	p.35
----------------------------------	-------------

I.1.2.2. Exclusion au laboratoire.....	p.35
--	-------------

I.1.3. Chiens sélectionnés et identification durant l'étude.....	p.36
--	-------------

I.1.4. Prélèvements urinaires.....	p.36
------------------------------------	-------------

I.1.4.1. Miction spontanée simple.....	p.36
--	-------------

I.1.4.2. Miction spontanée après nettoyage de la zone uro-génitale.....	p.37
---	-------------

I.1.4.3. Cystocentèse écho-guidée.....	p.37
--	-------------

<u>I.2. Préparation des urines</u>	p.38
--	-------------

I.2.1. Transfert des urines dans les tubes.....	p.38
---	-------------

I.2.2. Délai entre collecte et analyse au laboratoire central.....	p.38
--	-------------

I.2.3. Centrifugation.....	p.38
----------------------------	-------------

I.2.4. Préparation des spécimens liquides.....	p.39
--	-------------

I.2.5. Stockage des urines entre collecte et analyses ultérieures.....	p.39
--	-------------

I.2.6. Remise en suspension du sédiment.....	p.39
--	-------------

<u>I.3. Etapes analytiques immédiates</u>	p.40
---	-------------

I.3.1. Bandelette urinaire.....	p.40
---------------------------------	-------------

I.3.2. Densité urinaire.....	p.40
------------------------------	-------------

I.3.3. Examen cytologique du sédiment.....	p.40
--	-------------

I.3.3.1. Analyse préliminaire au faible grossissement (x10).....	p.40
--	-------------

I.3.3.2. Analyse au fort grossissement (x40).....	p.41
---	-------------

I.3.3.3. Analyse après coloration.....	p.42
--	-------------

I.3.4. RPCU.....	p.43
------------------	-------------

I.3.5. Contrôle qualité.....	p.43
<u>I.4. Analyses statistiques.....</u>	p.43
<u>II. Résultats.....</u>	p.44
<u>II.1. Description de l'échantillon.....</u>	p.44
II.1.1. Motifs d'inclusion.....	p.44
II.1.2. Motif d'exclusion.....	p.44
II.1.3. Epidémiologie de la population.....	p.45
<u>II.2. Collecte des urines et description des spécimens.....</u>	p.45
II.2.1. Délai entre la collecte du premier et du troisième spécimen et influence des facteurs démographiques sur le délai.....	p.45
II.2.2. Description macroscopique des spécimens.....	p.47
<u>II.3. Influence du mode de collecte sur les résultats de l'analyse urinaire.....</u>	p.47
II.3.1. Influence sur l'aspect macroscopique des urines.....	p.47
II.3.2. Influence sur la densité.....	p.47
II.3.3. Influence sur les résultats de la bandelette urinaire.....	p.47
II.3.4. Influence sur le culot urinaire.....	p.49
II.3.5. Risques relatifs de considérer le prélèvement comme hématurique, pyurique ou comme étant actif selon le mode de collecte.....	p.51
II.3.5.1 Influence sur la présence d'une pyurie (> 5GB/champ au x 400).....	p.51
II.3.5.2 Influence sur la présence d'une hématurie (> 5 GR/champs au x400)	p.51
II.3.5.3. Influence sur la présence d'une desquamation (> 5 cellules épithéliales/champs au x400).....	p.51
II.3.5.4. Influence sur la présence d'un sédiment actif (présence de l'une des quatre anomalies préalables).....	p.51
<u>II.4. Influence du mode de collecte sur le diagnostic cytologique d'infection du tractus urinaire.....</u>	p.52
<u>II.5. Influence mode de collecte sur la protéinurie, la créatininurie et le RPCU.....</u>	p.53
<u>III. Discussion.....</u>	p.54
Conclusion.....	p.59
Bibliographie.....	p.61

Annexes

ANNEXE 1 : Formulaire de consentement éclairé.....	p.67
ANNEXE 2 : Fiche d'accompagnement des prélèvements.....	p.68
ANNEXE 3 : Feuille d'analyse.....	p.70
ANNEXE 4 : Tableau Excel de centralisation des résultats pour les dix premiers individus de l'étude.....	p.76
ANNEXE 5 : Motifs de consultation ou diagnostic de l'affection dont souffraient les chiens inclus dans l'étude.....	p.78
ANNEXE 6 : Races représentées au sein de notre étude.....	p.79
ANNEXE 7 : Valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sur les analytes de la bandelette urinaire.....	p.80
ANNEXE 8 : Valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sur le culot urinaire..	p.80
ANNEXE 9 : Valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sur la présence d'hématurie, de pyurie, de desquamation microscopique ou de classification du sédiment comme étant actif.....	p.81
ANNEXE 10 : Valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sur la créatininurie, la protéinurie et le RPCU.....	p.81

Table des illustrations

Tableau 1 : Pathogénicité et fréquence des micro-organismes présents dans les urines obtenues par miction spontanée en médecine humaine.....	p.17
Tableau 2 : Seuils déterminants une bactériurie significative en fonction de différents facteurs en médecine humaine.....	p.18
Tableau 3 : Tableau de comptage des éléments d'intérêt de la cytologie du sédiment urinaire.....	p.41
Tableau 4 : Risques relatifs d'observer des modifications de l'analyse du sédiment en fonction du mode de collecte.....	p.52
Tableau 5 : Changement de catégorie IRIS en fonction du mode de collecte.....	p.53
Graphique 1 : Répartition des délais entre les trois collectes d'urine en fonction du sexe des animaux considérés.....	p.46
Graphique 2 : Répartition des délais entre les trois collectes d'urine en fonction du gabarit des animaux considérés.....	p.46
Graphique 3 : Influence du mode de prélèvement sur le nombre de leucocytes à la bandelette urinaire.....	p.48
Graphique 4 : Influence du mode de prélèvement sur l'activité peroxydasique de la bandelette.....	p.48
Graphique 5 : Répartition du nombre moyen de cellules épithéliales en fonction du mode de collecte.....	p.49
Graphique 6 : Répartition du nombre moyen de globules rouges en fonction du mode de collecte.....	p.50
Graphique 7 : Répartition du nombre moyen de leucocytes en fonction du mode de collecte.....	p.50

Liste des abréviations :

- RPCU Rapport protéine sur créatinine urinaire
- RCCU Rapport cortisol sur créatinine urinaire
- ITU Infection du tractus urinaire
- RBP Retinol-binding protein
- NAG N-acetyl- β -D-glucosaminidase
- PI Inhibiteur de protéase
- MAS Miction naturelle sans nettoyage de la sphère uro-génitale
- MAN Miction naturelle avec nettoyage de la sphère uro-génitale
- CYS Cystocentèse
- PuPd Polyuro-polydypsie
- IRA Insuffisance rénale aigue

Introduction :

L'analyse d'urine est aujourd'hui un examen complémentaire incontournable en médecine vétérinaire. Elle est un outil diagnostique pour les affections uro-génitales mais également systémiques, telles que les infections du bas appareil urinaire, les insuffisances rénales, le diabète sucré par exemple. Elle est donc couramment utilisée.

Cependant, la mauvaise réalisation de cette analyse peut être à l'origine de résultats erronés. Les informations incorrectes entraînent l'élimination de certaines hypothèses. Elles faussent donc le diagnostic et entraînent la mise en place d'un traitement inadapté voir contre-indiqué (Osborne et al., 1999). Par conséquent, bien que nécessitant peu de matériel et de manipulation, cette analyse doit être effectuée rigoureusement.

Un certain nombre de facteurs sont à prendre en compte lors de la réalisation de celle-ci. (Osborne et al., 1999)

Ils peuvent être divisés en trois domaines : pré-analytique, analytique et post-analytique. La phase pré-analytique comprend l'ensemble des étapes se déroulant depuis la prise de décision de réaliser l'analyse jusqu'à ce que le spécimen soit acheminé au laboratoire et analysé. Elle comprend par exemple la prise des commémoratifs, le prélèvement en tant que tel ainsi que les conditions de conservation et/ou transport jusqu'au laboratoire (Murat, 2003). La phase analytique correspond quant à elle à la réalisation de l'analyse et enfin, la phase post-analytique représente la validation biologique, la transmission des résultats, leur interprétation.

(Laboratoire de biologie médicale BIOPOLE, 2017)

Notre étude s'intéresse à la phase pré-analytique, et plus précisément, à l'influence du mode de prélèvement sur les résultats. L'objectif de notre travail est de comparer la miction spontanée, la miction spontanée après nettoyage de l'appareil urogénital externe et la cystocentèse, considérée aujourd'hui comme la méthode de référence en médecine vétérinaire pour la collecte des urines (Comer, Ling, 1981 ; Reine, Langston, 2005b). Notre hypothèse de travail est qu'après nettoyage de la zone urogénitale, l'urine prélevée par miction spontanée pourrait permettre d'obtenir des résultats d'analyse de qualité similaire voir supérieure à ceux obtenus à partir d'urine prélevée par cystocentèse.

Etant un mode de collecte peu invasif, il s'agit donc d'une méthode plus adaptée au respect de l'éthique animale, très importante dans la pratique de notre profession.

Nous nous intéresserons dans une première partie aux différentes variables à prendre en compte au sein de la phase pré-analytique et aux précautions à prendre pour ne pas entraîner d'erreur au cours de cette phase. La seconde partie, expérimentale, nous permettra de préciser l'influence du mode de collecte sur l'analyse d'urine physico-chimique et cytologique du chien.

PARTIE A : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

**Influence de la phase pré-analytique sur les résultats
de l'analyse urinaire**

L'importance des erreurs pré-analytiques en médecine vétérinaire est encore peu investiguée (Reine, Langston, 2005a). Une étude réalisée par un laboratoire australien a étudié les résultats d'analyses réalisées sur une période de 8 ans. Elle a montré qu'environ deux tiers des erreurs de laboratoire sont dues à la phase pré-analytique (Hooijberg et al., 2012).

Nous étudierons donc ici l'influence de différentes variables de cette phase sur les résultats de l'analyse d'urine.

I. Influence du statut de l'animal lors du prélèvement sur les résultats de l'analyse d'urine

I.1. Influence de l'heure de prélèvement sur les résultats de l'analyse d'urine

Peu d'études ont été mises en place pour étudier l'influence de l'heure de collecte sur l'analyse d'urine chez le chien. Seules 3 variables ont été étudiées selon nos recherches bibliographiques.

I.1.1. Protéinurie et RPCU

En pratique courante, les urines sont souvent prélevées indifféremment au cours de la journée sur les patients selon l'heure du rendez-vous. Le prélèvement des urines au hasard ne pose pas de problème pour un dépistage de la protéinurie (Osborne, Stevens, 1999). Il est cependant important de savoir que la composition de l'urine varie avec le rythme circadien de l'individu (Osborne *et al.*, 1976).

L'influence de l'heure de collecte sur la protéinurie et le RPCU a été étudiée.

D'après une étude rétrospective réalisée sur 16 articles en médecine humaine, l'excrétion protéique varie au cours de la journée en fonction de l'exercice, du repos, du régime alimentaire, de la prise de boisson (Price et al., 2005). La collecte d'urine sur 24h est une méthode de prélèvement urinaire permettant d'estimer la protéinurie en éliminant le biais induit par cette variabilité (Price et al., 2005). Cependant, l'étude sur 24h présente des points négatifs tels que la difficulté de collecte des urines, leur contamination ou évaporation et le délai d'analyse (McCaw et al., 1985). Une alternative a été de calculer le rapport entre la protéinurie et la créatininurie, ou RPCU

L'étude de McCaw et al. réalisée sur 36 chiens étudie l'influence de l'heure de collecte sur le RPCU. Les urines analysées ont été prélevées sur des chiens hospitalisés, par sondage en deux instants : le matin et le soir. Le RPCU a ensuite été comparé entre les urines produites la journée et celles produites la nuit. Cette étude montre que le rapport n'est pas significativement modifié en fonction de l'heure de prélèvement. (McCaw et al., 1985).

I.1.2. Densité urinaire et osmolarité

Une étude réalisée sur 89 chiens a étudié l'osmolarité et la densité urinaire en fonction de l'heure de collecte. Les propriétaires ont récolté les urines par miction spontanée le matin durant la première promenade et le soir pour la dernière promenade de la journée durant deux jours consécutifs. La densité urinaire a par la suite été mesurée par réfractométrie et l'osmolarité par abaissement du point de congélation. Cette étude montre une osmolarité et une densité urinaire significativement supérieures en début de journée. Les auteurs expliquent cela par une prise de boisson prépondérante durant l'éveil de l'animal entraînant une dilution des urines (van Vonderen et al., 1997). En effet, le respect d'un rythme circadien est présent chez les chiens, de la même manière que chez tous les mammifères (Noh et al., 2011). La prise alimentaire et de boisson, de même que la production urinaire et la miction sont majoritairement diurnes tandis qu'un stockage plus important et une diminution du besoin de miction se réalisent la nuit. (Noh et al., 2011)

Les variations intra individuelles au cours de la journée sont telles que l'on ne peut réellement se fier à une valeur unique (van Vonderen et al., 1997). Par conséquent, d'après cette étude, si une polyurie-polydipsie est suspectée, des mesures répétées de densité urinaire peuvent être nécessaires pour effectuer un diagnostic définitif.

I.2. Influence de l'alimentation sur les résultats de l'analyse d'urine

I.2.1. pH urinaire

Les avis diffèrent concernant l'influence d'une récente prise alimentaire sur le pH.

Une étude réalisée sur 16 chiens a étudié l'effet de quatre aliments du commerce sur le pH urinaire. Il s'agit d'aliments secs de natures différentes : une alimentation physiologique pour chiens adultes, une alimentation pour chiens à troubles digestifs, une alimentation de type rénale et la dernière prévenant la formation de calculs urinaires de type struvite. Les urines ont été

prélevées après 12h de jeun, puis 4 et 8 heures après un repas. Le pH a été mesuré avec un pH-mètre. Cette étude indique qu'aucune modification significative n'est présente en période postprandiale. (Gleaton et al., 2001)

Une autre étude, réalisée par Stevenson et al. sur 12 chiens a permis d'étudier l'effet de différents aliments humides complémentés ou non en citrate de potassium sur le pH et la densité urinaire. Les urines étaient analysées en continu à l'aide d'un système de mesure de pH non invasif, et le pH était également mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Une alcalinisation des urines en période postprandiale a été montrée quel que soit l'aliment. Deux pics ont été mis en évidence : une et quatre heures après la prise alimentaire. (Stevenson et al., 2000)

Une étude réalisée sur 90 chats montre également une augmentation du pH urinaire en période postprandiale. Cette étude est réalisée avec le même aliment pour tous les animaux, il s'agit d'un aliment humide. Selon les résultats de cette étude, le pH urinaire dépend de la quantité d'aliment ingérée et suit une fonction linéaire. (Finke, Litzenberger, 1992)

Ces résultats contradictoires peuvent être expliqués par le type d'aliments utilisé dans chaque étude (Gleaton et al., 2001). L'alcalinisation des urines en période postprandiale s'explique par la sécrétion d'acide gastrique entraînant une alcalose (Archer, 2005). Les reins compensent ce phénomène en conservant les acides et produisent donc une urine alcaline (Finke, Litzenberger, 1992). Cependant, la vidange gastrique ne se déroule pas à la même vitesse selon l'aliment. Celle-ci est plus rapide avec des aliments humides que des aliments secs. Le fait de nourrir un animal avec une alimentation sèche entrainera donc une vidange gastrique plus lente, à l'origine d'un équilibre entre sécrétions gastriques (acides) et sécrétions pancréatiques (basiques). Cet équilibre des pH de sécrétions lors d'une alimentation sèche explique une absence de modification du pH urinaire avec ce type d'aliment. (Gleaton et al., 2001).

Il peut être intéressant d'effectuer des analyses d'urines en période postprandiale afin de déterminer l'effet de l'alimentation sur le pH urinaire, la cristallurie ou la glycosurie (Osborne, Stevens, 1999). Il est cependant important de ne pas introduire de biais lors d'analyses d'urine comparatives au sein d'un lot d'animaux. Pour se faire, d'après cet ouvrage, il est recommandé de prélever tous les spécimens à la même distance des repas.

Si un prélèvement est effectué en période postprandiale, dans le cas d'une urgence par exemple, il est important d'en tenir compte lors de l'analyse des résultats. Une glycosurie hyperglycémique sera par exemple moins remarquable chez un animal à jeun que 3 à 4h après le repas (Osborne et al., 1999). Nous pouvons donc conclure d'après cet ouvrage que dans le cas

où un doute subsiste, il peut être intéressant de faire une seconde analyse (Osborne et al., 1999). Ceci n'a pas fait l'objet d'une étude expérimentale publiée à notre connaissance.

I.2.2. Protéinurie et RPCU

Une étude s'intéresse à la protéinurie de 6 chats en fonction de l'alimentation. Les chats de cette étude sont nourris avec une alimentation sèche avant le début de l'étude, puis avec une alimentation humide pendant une semaine, avant de repasser à une alimentation sèche. Les urines ont été collectées le premier jour de l'étude, puis après une et deux semaines. La protéinurie est estimée par bandelette urinaire. Une diminution de la protéinurie est mise en évidence lorsque les individus sont nourris avec une alimentation humide, et une augmentation de celle-ci est observable après la réintroduction de l'alimentation sèche (Palmore et al., 1978).

Jergens et al., ont quant à eux effectué leurs recherches sur 10 chiens. Ils ont mesuré le RPCU sur des urines prélevées dans différentes conditions. Les premières urines sont collectées suite à 12h de jeun. Les chiens sont ensuite nourris avec une alimentation riche en protéine (p/d canine prescription diet, Hill's Pet products Inc.) à hauteur de 60kcal/kg, et les urines prélevées une heure après. Aucune différence significative n'a été mise en évidence au cours de cette étude. (Jergens et al., 1987).

Il semble donc que l'alimentation et la période postprandiale n'influence pas le RPCU chez le chien.

I.2.3. Densité et osmolarité urinaire

L'étude de Palmore et al. réalisée sur 6 chats étudie également l'effet de l'alimentation sur l'osmolarité et la densité urinaire. Elle montre une diminution de ces deux paramètres lors de l'utilisation de l'alimentation humide. Ces paramètres augmentent à nouveau chez 4 des six chats une semaine après réintroduction de l'alimentation sèche. (Palmore et al., 1978).

La capacité de concentration des urines est augmentée lorsqu'une alimentation riche en protéine est donnée aux chats (Palmore et al., 1978). Dans cette étude, le niveau de protéine est >30% dans l'alimentation sèche et >9% dans l'humide. Cela peut expliquer la différence de concentration urinaire. De plus, aucun accès à l'eau n'étant accordé pendant l'expérience, les chats nourris avec l'alimentation humide consomment plus d'eau que les autres (Palmore, Gaskin, and Nielson 1978). Enfin, l'alimentation sèche contient plus de sel que l'humide. Ceci

entraîne une conservation d'eau plus importante par sécrétion d'une hormone anti diurétique. L'augmentation de l'osmolarité résulte de ces différents éléments.

Aucun article démontrant un effet similaire chez le chien n'a été trouvé.

I.3. Influence du stress sur les résultats de l'analyse d'urine

Un certain nombre d'hormones interviennent lors d'un stress chez l'animal, notamment le cortisol (Bodnariu, 2008). La cortisolurie pouvant être mesurée pour le diagnostic d'un hypercorticisme, il est important de tenir compte d'une potentielle augmentation induite par le stress (Peterson, 2007). La variable déterminée est le rapport cortisol sur créatinine urinaire (RCCU) qui permet de normaliser la cortisolurie sur 24h (Peterson, 2007).

Vonderen et al. (1998) ont réalisé trois études sur 19, 12 et 10 chiens afin d'évaluer l'effet du stress induit respectivement par une visite vaccinale, un examen orthopédique ou une hospitalisation d'un jour et demi sur le RCCU. Une grande variabilité quant à l'effet du stress sur la cortisolurie est mise en évidence. Pour certains chiens, aucune variation n'est constatée tandis que d'autres présentent une augmentation marquée du RCCU. Les augmentations modérées se retrouvent principalement chez les chiens présentés pour une vaccination tandis que les plus importantes ont lieu durant l'hospitalisation. Il semble donc que l'augmentation du RCCU soit corrélée au niveau de stress engendré. Dans cette étude, 6 chiens parmi les 22 dont le RCCU augmentent ont dépassé le seuil diagnostic d'un hypercorticisme. Ceci peut être à l'origine de faux-positifs (van Vonderen et al., 1998).

Par conséquent, lors de l'utilisation de ce test, il est important de limiter le stress du patient au maximum. Le prélèvement urinaire est donc réalisé par le propriétaire avant de venir à la clinique. (Peterson, 2007)

II. Influence du mode de prélèvement sur les résultats de l'analyse d'urine

II.1. Bactériurie

La présence d'une bactériurie n'est pas nécessairement signe d'infection du tractus urinaire (ITU) (Carter et al., 1978). Les urines, bien que physiologiquement stériles dans la vessie, peuvent se contaminer lors du passage dans le tractus urinaire (Osborne, 1995), ou dans le milieu extérieur (Reine, Langston, 2005b). Une bactériurie est considérée significative lorsqu'elle est effectivement due à une infection (Osborne, 1995).

Une étude réalisée en médecine humaine par Kass a établi deux seuils de bactériurie.

En premier lieu, il y est montré que 95% des femmes présentant une pyélonéphrite présentent 10^5 UFC d'une seule espèce de bactérie par millilitre d'urine lors d'un prélèvement urinaire par miction spontanée, en laissant s'écouler les premiers jets urinaires. Il est de plus montré qu'une telle observation sur deux prélèvements consécutifs chez des femmes asymptomatiques entraîne le même résultat dans 95% des cas sur un troisième spécimen. Il en est déduit que pour diagnostiquer une bactériurie asymptomatique avec une précision raisonnable, il est nécessaire d'observer plus de 10^5 UFC/mL d'une même espèce bactérienne dans deux spécimens consécutifs collectés dans ces conditions.

Kass a également démontré que moins de 10^4 UFC/mL est le signe d'une contamination durant la collecte, et qu'une concentration bactérienne entre 10^4 et 10^5 UFC/mL est difficile à interpréter. Bien que ces seuils aient été initialement déterminés dans le cadre de pyélonéphrites aiguës et de bactériurie asymptomatique chez les femmes, ils commencent à être utilisés plus généralement, y compris dans le cadre d'infections du bas appareil urinaire symptomatiques. (Kass, 1957)

D'autres études ont par la suite mis en place des seuils en prenant également en compte le germe considéré. Certains germes sont en effet considérés comme ayant un pouvoir pathogène plus important que d'autres (Aspevall et al., 2001). La classification des bactéries entraînant des infections urinaires en médecine humaine est donnée dans le tableau 1. Elles sont classées dans 16 catégories basées sur 4 degrés de pathogénicité (I-IV) et 4 degrés de fréquence dans la population présentant une ITU clinique (A-D).

Pathogenicity in the urinary tract	Frequency (percent of isolates)			
	A. Common (> 10%)	B. Fairly common (1–10%)	C. Uncommon (0.1 – 1%)	D. Rare (<0.1%)
I. Primary pathogens	<i>E. coli</i>	<i>S. saprophyticus</i>		<i>E. coli</i> CO ₂ -dependent, <i>Salmonella</i> spp. ^a (<i>Leptospira</i> , mycobacteria)
II. Secondary pathogens		<i>Enterobacter</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i>	<i>Citrobacter</i> spp., <i>M. morgani</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Serratia</i> spp., <i>S. aureus</i>	<i>Corynebacterium urealyticum</i> , <i>Haemophilus</i> spp. ^b Pneumococci ^b
III. Doubtful pathogens		GBS ^c , Yeast, CNS (others) ^d	<i>Acinetobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	A great number of reported cases have been published with exceptional cases of infections caused by other species
IV. Usually urethral or genital flora ^e		α streptococci, <i>Gardnerella vaginalis</i> , Lactobacilli, etc.	<i>Bifidobacterium</i> spp., "Diphtheroid" rods, etc.	

^a Low concentrations are reported even if they are most likely caused by contamination during specimen collection.
^b Most often isolated from children.
^c GBS=group B streptococci (*S. agalactiae*).
^d CNS=coagulase-negative staphylococci, urease-forming isolates or isolates found in patients with indwelling catheters have increased significance.
^e No identification and susceptibility testing (only exceptionally, if especially indicated).

Tableau 1 : Pathogénicité et fréquence des micro-organismes présents dans les urines obtenues par miction spontanée en médecine humaine (Aspevall et al., 2001)

Selon l'« European urinalysis guidelines », les seuils permettant de déterminer la significativité d'une bactériurie dépendent en fait de plusieurs facteurs : les symptômes, la catégorie bactérienne considérée, le nombre d'espèces isolées, le mode de collecte des spécimens, et le sexe de l'individu.

Par exemple, le seuil dans le cadre d'infection du tractus urinaire symptomatique causée par un germe primaire est établi à plus de 10³ UFC/mL pour les urines prélevées par miction spontanée en laissant les premiers jets s'écouler. Pour les germes secondaires, un seuil de 10⁴UFC/mL pour les femmes et 10³UFC/mL pour les hommes est à utiliser.

Ces différents seuils sont présentés dans le tableau 2.

TABLE XIII. Suggested limiting concentrations of bacteria colonies justifying identification and susceptibility testing in the laboratory.

Symptoms ^a and specimens	Inoculum, min volume	Species type ^b and number		Significant colony concentration	
				CFB/L	(CFU/mL)
<i>Mid-stream urine specimen:</i>					
Yes ^a	1 µL	I	1–2 ^c	10 ⁶	(10 ³)
		II	1	10 ⁷ (women)	(10 ⁴)
		II	1	10 ⁶ (men)	(10 ³)
		II	2	10 ⁸	(10 ⁵)
		III	1	10 ⁸	(10 ⁵)
No ^a		I–III	1	10 ⁸	(10 ⁵)
Yes (Special)	10 µL ^d	I	1–3 ^c	10 ⁵	(10 ²)
<i>Suprapubic aspiration specimen</i>					
Yes or no	100 µL ^e	I–IV	1–2	10 ⁴	(10 ¹)
<i>Specimen from cystoscopy or single urethral catheterisation:</i>					
Yes or no	10 µL ^d	I–III	1–2	10 ⁵	(10 ²)
<i>Specimen from indwelling catheter:</i>					
Yes	1 µL	I–III	1–3 ^f	10 ⁷	(10 ⁴)
No	1 µL	I–III	1 ^g	10 ⁸ , ^g	(10 ⁵ , ^g)

^a Yes=The patient has symptoms, No = No symptoms, or no information about symptoms.

^b Suggestive category based on growth characteristics (see Table IX). Species of normal urogenital flora (IV) are examined for susceptibility only if especially indicated.

^c Usually, only one species is identified if 2–5 similar colonies grow (as locally agreed) and antimicrobial susceptibility is examined. Occasionally, two species may be identified for specific patient populations. Three or more species are usually reported as “mixed culture” and considered as contaminants. Susceptibility testing of isolates from mid-stream urine specimens as well as other detailed strategic decisions need local clinical and microbiological consultation.

^d In routine workup, a 1-µL loop is practical. However, in specific patient groups, such as in patients with certain urological diseases, or in a precise evaluation of patients with simple cystitis, a result at $\geq 10^5$ CFB/L (10^2 CFU/mL) and a statistically reliable culture result at 10^6 CFB/L (10^3 CFU/mL) may be clinically significant. This is obtained only by using a 10-µL loop. This sensitized culture procedure should be specially requested to avoid inadvertent extra work and costs caused by routine application of a 1-µL loop for all specimens.

^e Suprapubic aspiration specimens should be cultured from a 100 µL inoculum to reach the highest sensitivity, since $> 10^4$ CFB/L (10^1 CFU/mL) and a statistically reliable culture result at 10^5 CFB/L (10^2 CFU/mL) may be significant.

^f Three species are isolated on special request only from symptomatic patients (suspicion of pyelonephritis or urosepsis). Susceptibility testing from catheter specimens is done only for *E. coli* and Gram-negative bacteria if they are present at concentration of 10^7 CFB/L (10^4 CFU/mL) per species, or more. For asymptomatic patients, a higher limit of significant growth (10^8 CFB/L) is suggested for Gram-negative bacteria.

Tableau 2 : Seuils déterminants une bactériurie significative en fonction de différents facteurs en médecine humaine (Aspevall et al., 2001)

Plusieurs études s’intéressent à l’influence du mode de collecte sur la bactériurie chez les animaux.

Une étude effectuée sur 22 chevaux compare les résultats de culture bactérienne sur des urines prélevées par miction spontanée ou par sondage urinaire. Une différence significative est démontrée entre les deux modes de collecte ($p < 0,05$) (MacLeay, Kohn, 1998).

Chez le chien, plusieurs études sont réalisées.

Une étude portant sur 25 chiens cliniquement sains étudie l'influence de trois modes de collecte sur la bactériurie : miction spontanée, sondage urinaire ou cystocentèse. Il est à préciser que lors de l'étude, les récipients de collecte ont pu avoir été mis en contact avec les poils des zones péri-génitales et que dans certains cas, les premiers jets urinaires n'ont pas été éliminés (Carter et al., 1978).

Leurs résultats sont les suivants :

- Pour les urines prélevées par miction spontanée : Absence de croissance bactérienne chez 40% des chiens, bactériurie non significative pour 44% des cas et bactériurie significative chez 16%.
- Pour les urines prélevées par sondage : Absence de croissance bactérienne chez 80% des chiens et bactériurie non significative pour les 20% restants.
- Pour les urines prélevées par cystocentèse : Absence de croissance bactérienne chez 84% des chiens, bactériurie non significative chez 12% et bactériurie significative chez 4% des cas, soit un chien.

Les seuils utilisés pour établir la significativité de la bactériurie sont ceux présentés par Kass (1956).

Le chien pour lequel la bactériurie est significative par cystocentèse présente une bactériurie non significative par miction spontanée et une absence de croissance bactérienne par sondage. Cela peut être expliqué par une ponction intestinale au moment de la manipulation. Il est donc primordial lors de prélèvements urinaires, quelle que soit la méthode, de prendre toutes les précautions nécessaires pour éviter les faux-positifs (Carter et al., 1978).

Une autre étude réalisée sur 50 chiens (25 femelles et 25 mâles), a pour objectif d'étudier non seulement l'influence du mode de collecte mais également l'influence du sexe sur les résultats. (Comer, Ling, 1981). Les modes de collecte étudiés dans cette étude sont la miction spontanée, la cystocentèse et le sondage urinaire. Un groupe de 16 mâles et 14 femelles est prélevé en premier lieu par cystocentèse puis par sondage. Un second groupe, 11 femelles et 9 mâles est prélevé par cystocentèse puis par miction spontanée. Le délai entre les deux prélèvements sur un même chien est de moins de 12 heures. Un nettoyage de l'extrémité du pénis extériorisé pour les mâles et de la vulve pour les femelles est réalisé avant sondage à l'aide d'un coton imbibé de NaCl. Pour les spécimens obtenus par miction spontanée, l'urine est récupérée dans un récipient stérile, mais aucun nettoyage de l'appareil uro-génital externe n'est réalisé. Aucune

précision n'est apportée concernant la fraction du jet urinaire collectée. Dans cette étude, les urines sont d'abord prélevées par cystocentèse pour s'assurer de l'absence de bactérie. Toute urine non stérile aboutissait à l'exclusion du chien de l'étude (Comer, Ling, 1981).

Une bactériurie significative selon les seuils définis dans l'étude de Kass (1956) est mise en évidence chez 10% des chiens dont l'urine est obtenue par sondage et 35% des chiens dont l'urine est obtenue par miction spontanée. Par conséquent, un diagnostic d'ITU aurait été établi chez ces chiens, dont l'urine a pourtant été prouvée stérile par la précédente cystocentèse. De plus, une croissance bactérienne est notée chez 26% des chiens sondés et 85% des chiens dont l'urine est prélevée par miction spontanée. Sans se fier à l'aspect quantitatif, le taux de faux-positifs aurait été bien plus important. Cette étude démontre à nouveau l'importance des seuils pour diagnostiquer une ITU. Enfin, cette étude montre que les femelles sont plus sujettes aux contaminations que ce soit pour des urines prélevées par miction spontanée ou par sondage (Comer, Ling, 1981).

Les trois modes de collecte présentés dans ces articles, soit la miction spontanée, le sondage et la cystocentèse sont raisonnablement utilisables. Cependant le prélèvement par miction spontanée entraîne plus de risques de faux-positifs. Par conséquent si une bactériurie est suspectée par miction spontanée, il peut parfois être utile de prélever une seconde fois par sondage ou cystocentèse afin de confirmer le diagnostic (Carter et al., 1978).

La bonne réalisation du prélèvement est nécessaire quel que soit le mode de collecte utilisé. Chez l'homme, il a été montré que le sondage pouvait être à l'origine d'ITU, provoquée par des bactéries issues de l'urètre.

Une étude est réalisée pour étudier ceci chez le chien (Biertuempfel et al., 1981).

Cette étude est réalisée sur 70 chiens cliniquement sains. Les urines sont tout d'abord prélevées par cystocentèse puis par sondage. Leur culture est négative. Une cystocentèse est à nouveau effectuée trois jours après, dans le but de démontrer une potentielle infection.

Chez 20% des femelles, des bactéries sont isolées après culture des urines prélevées lors de la seconde cystocentèse. Aucun isolat bactérien n'est mis en évidence chez les mâles. Une explication possible à cette différence est, selon eux, la praticité du nettoyage des zones urogénitales. Nettoyer la zone autour de l'orifice urétral chez les mâles est plus simple et donc complet que chez les femelles. Et la zone interne de l'urètre distal est bien souvent sans bactéries chez le mâle.

L'étude suppose donc que les femelles sont plus à risque de développer une ITU suite à sondage que les mâles. Cette méthode doit donc être utilisée uniquement lorsque la cystocentèse ne peut être réalisée (Biertuempfel, Ling, and Ling 1981).

D'après les études précédentes, pour la culture bactérienne, il est préférable de prélever les urines par cystocentèse. Si des problèmes de dysurie ou pollakiurie l'empêchent, il peut être nécessaire d'utiliser les deux autres méthodes. Dans ces situations, la partie extérieure de l'appareil urinaire doit être rincée avec une solution adaptée, et les poils tondu. Il faut utiliser du matériel stérile.

Une étude réalisée sur 94 chiens a pour but d'évaluer le seuil utilisé en médecine vétérinaire : 10^5 UFC/mL comme indicateur de la significativité d'une bactériurie lorsque les urines sont prélevées par miction spontanée. Le second objectif est de déterminer si l'ajout de critères qualitatifs comme en médecine humaine permet une meilleure précision de ces seuils (Soerensen et al., 2015).

Dans cette étude, les urines sont collectées en premier lieu par cystocentèse, puis par miction spontanée. Pour ce dernier mode de collecte, les poils du fourreau ou de la vulve sont tondu si besoin, et les zones nettoyées. La vulve ou le prépuce sont rincés avec une solution saline isotonique stérile avant collecte. Aucune précision concernant la fraction urinaire collectée n'est apportée.

Il est montré que le seuil utilisé en médecine vétérinaire de 10^5 UFC/mL permet une précision de 94%, une sensibilité et une spécificité de 94%. L'utilisation des critères qualitatifs définis dans l' « European urinalysis guidelines » n'augmente pas la précision globale (89%) et permet d'atteindre une sensibilité de 97% et une spécificité de 86%.

Dans cette étude, 4% de faux positifs sont présents seulement, ce qui est inférieur aux études précédentes. Les auteurs expliquent cela par le fait que les chiens introduits dans leur étude présentent des signes cliniques compatibles avec une infection du bas appareil urinaire.

Il pourrait être intéressant de réaliser une seconde culture sur urines obtenues par cystocentèse dans le cas de chiens asymptomatiques.

Il est donc montré que chez la majorité des chiens chez lesquels une ITU est suspectée, un diagnostic précis peut être établi en utilisant des urines obtenues par miction spontanée avec nettoyage, lorsque le seuil couramment utilisé en médecine vétérinaire est appliqué, sur des urines réfrigérées et mises en culture dans les 4h suivant la collecte. Ceci contredit les

recommandations courantes en littérature vétérinaire, dans laquelle de nombreux auteurs découragent l'utilisation d'urines collectées par miction spontanée.

II.2. Hématurie

Aucune hématurie iatrogène significative n'est présente lorsque les urines sont prélevées par miction spontanée. Il s'agit donc de la technique de choix si l'analyse d'urine est réalisée dans le but d'objectiver une hématurie (Ettinger, Feldman, 2010). En effet, une hématurie iatrogène peut être induite par les deux autres techniques. D'après les ouvrages de synthèse, il est important d'être le moins traumatique possible lors d'un sondage. De plus, lors d'une cystocentèse, l'utilisation d'une aiguille rend le prélèvement plus délicat que les deux précédents. Une hématurie iatrogène peut être présente si l'aiguille touche la paroi opposée de la vessie, lacère la vessie ou les vaisseaux dorsaux à celle-ci. Il est important de tenir compte d'une potentielle hématurie iatrogène lors de l'interprétation des résultats. (Reine, Langston, 2005b)

II.3. RPCU

Une étude réalisée sur 17 chiens étudie l'influence d'une cystite et d'une contamination sanguine sur le RPCU (Bagley et al., 1991). D'après les résultats, une protéinurie significative se développe chez les individus présentant une inflammation des parties basses de l'appareil urinaire, ou une importante contamination sanguine. Il en a été conclu que tout trouble inflammatoire ou hémorragique de l'appareil uro-génital peut significativement altérer le RPCU et invalider son utilisation pour l'estimation précise d'une excrétion protéique urinaire. (Bagley et al., 1991)

Afin d'étudier l'effet du mode de collecte des urines sur le RPCU, une étude est réalisée sur 81 chiens (Beatrice et al., 2010). Les urines sont prélevées par miction spontanée, en laissant les premiers jets s'écouler et par cystocentèse une heure plus tard. 115 chiens ont été testés initialement. Cependant un certain nombre présentaient un sédiment urinaire actif. Ils présentaient en effet plus de 5 Globules rouges ou globules blancs par champ, une cellularité augmentée ou une bactériurie. Ils ont donc été écartés de l'enquête, du fait du résultat de l'étude de Bagley et al. (1991).

Les chiens sont classés :

- Non protéinuriques si $RPCU < 0,2$
- Borderline si $0,2 < RPCU < 0,5$
- Protéinuriques si $RPCU > 0,5$ (Lees et al., 2005).

Bien que 4 faux-positifs et 2 faux-négatifs soient observés lors de prélèvements par miction spontanée, aucune différence significative n'est rapportée quant aux moyennes et médianes des RPCU en fonction du mode de collecte. Aucun chien non protéinurique par cystocentèse n'est protéinurique par miction spontanée et inversement.

Il en est déduit que la miction spontanée peut être un mode de prélèvement adéquat pour le calcul du RPCU. Les auteurs de l'étude précisent cependant qu'un prérequis essentiel pour l'obtention de ces résultats est l'absence de sédiment actif : plus de 5 globules rouges ou globules blancs par champ, une cellularité augmentée ou une bactériurie. Selon eux, même en absence de désordres post-rénaux, il doit toujours y avoir un examen microscopique des urines collectées par miction spontanée avant mesure de RPCU. Si un sédiment actif est présent, les urines ne doivent pas être utilisées, et un prélèvement par cystocentèse doit être réalisé.

Une étude réalisée en 2017 étudie l'influence du mode de collecte des urines sur le RPCU sur 71 chiens âgés selon l'«Age analogy chart» (Fortney, 2012) et en bonne santé, d'après un examen clinique et des examens complémentaires réalisés le jour de l'expérimentation (Marynissen et al., 2017). Les modes de collectes étudiés sont la cystocentèse et la miction spontanée. La première est effectuée le jour de la visite de contrôle de l'état de santé de l'animal. Pour la seconde il est demandé aux propriétaires de récolter deux spécimens : le premier sur les premières urines du jour de la consultation, et le second environ deux semaines après. Il leur est précisé de récolter les urines dans un récipient propre (non stérile) et de minimiser le contact des urines avec le corps de l'animal.

L'obtention des deux spécimens par miction spontanée a été possible chez 42 chiens (60%). Le délai entre les deux varie de 10 jours à 3 mois, avec une médiane à 31 jours.

La comparaison du RPCU des urines prélevées par miction spontanée et par cystocentèse révèle une forte corrélation entre les deux modes de collecte : $p=0,88$. Il n'y a pas de différence significative entre ces deux méthodes ($p=0,44$). Treize chiens sur les 71 présentent une classification différente entre les deux modes de collecte. Neuf d'entre eux présentent une augmentation du RPCU par cystocentèse. Cependant, en étudiant ces 13 cas, il est montré que les valeurs de RPCU restent proche des seuils de décision, il est donc important de les

interpréter avec de grandes précautions. La variabilité semble tout de même augmenter lorsque les valeurs de RPCU augmentent.

Cette étude renforce donc l'hypothèse selon laquelle les deux modes de collecte apportent des résultats similaires. Il est précisé qu'il est important d'interpréter avec précautions les résultats lorsque les valeurs de RPCU sont proche des seuils permettant de différencier un animal protéinurique, douteux ou non protéinurique.

II.4. Albumine, retinol-binding-protein (RBP), N-acetyl- β -D-glucosaminidase urinaires

De nouveaux marqueurs permettent la détection précoce d'une atteinte rénale. Parmi eux, l'albumine (P. M. Y. Smets et al., 2010), la RBP et la N-acetyl- β -D-glucosaminidase. Une atteinte glomérulaire est à l'origine d'une filtration plus importante de l'albumine, tandis que des atteintes tubulaires entraînent une excrétion urinaire importante de RBP (Maddens et al., 2010) et N-acetyl- β -D-glucosaminidase (Pascale M. Y. Smets et al., 2010).

Une étude réalisée sur 11 chiens a permis d'étudier l'influence du mode de collecte sur ces marqueurs urinaires. Les concentrations de ces différents marqueurs dans les urines ne diffèrent pas significativement selon le mode de collecte considéré. Quand une cystocentèse est réalisée, il est important d'éviter une contamination par du sang périphérique qui risquerait d'entraîner une augmentation erronée de l'albuminurie. (Pascale M. Y. Smets et al., 2010)

III. Influence de la méthode de conservation du spécimen sur les résultats de l'analyse d'urine

III.1. Bactériurie

III.1.1. Influence de la durée et température de conservation

L'évolution de la population bactérienne dépend des conditions environnementales dans lesquelles elle est placée. Par conséquent, la croissance bactérienne, ou encore le déclin des populations sont dus aux conditions de conservation avant culture (Padilla et al., 1981).

Afin d'obtenir une valeur diagnostique, pronostique et thérapeutique, les analyses bactériologiques doivent être réalisées sur des spécimens représentatifs de la flore de l'individu prélevé (Padilla et al., 1981). Pour des urines dont la culture est différée de la collecte, les conditions de conservation doivent permettre un maintien de la population bactérienne, afin que celle-ci soit représentative.

L'étude de Padilla et al. (1981) réalisée sur 26 chiens a pour objectif d'étudier l'effet de la durée de conservation et de la température sur la culture urinaire. Le mode de collecte n'est pas précisé dans cette étude. Les urines sont sélectionnées au hasard parmi les spécimens soumis à une analyse d'urine de routine dans le laboratoire du centre hospitalier universitaire vétérinaire de l'université du Minnesota. Les spécimens sont divisés en plusieurs aliquotes, utilisées pour différentes cultures. Les premières aliquotes de chaque spécimen sont transférées dans des tubes stériles à l'aide de pipettes stériles, et transportées immédiatement au laboratoire de microbiologie, dans lequel sont réalisées les cultures bactériennes. La bactériurie est alors considérée significative lorsque plus de 10^5 bactéries d'une même espèce sont présentes par millilitre d'urine, après culture de 24 à 48h. Une contamination est considérée en dessous du seuil de 10^4 bactéries/mL.

Les spécimens sont ensuite divisés en trois aliquotes :

- Un millilitre de chaque spécimen est transféré dans des tubes stériles envoyés au centre hospitalier du Minnesota entre janvier et février.
- Une aliquote de chaque spécimen est placée à température ambiante (21-25°C), et les spécimens sont inoculés sur le système de culture 2, 4, 6, 12 et 24 heures après la culture initiale.
- La dernière aliquote est stockée à température de réfrigération : 3-8°C, et l'inoculation à lieu également 2, 4, 6, 12 ou 24 après culture initiale.

Toutes les aliquotes sont par la suite mises en incubation aérobie pendant 24-48h entre 35 et 37°C. Les colonies bactériennes sont par la suite comptées et identifiées. Le dénombrement est ensuite comparé à celui réalisé lors de la première culture, considéré comme référence.

Les urines conservées dans un tube stérile à température ambiante subissent d'importantes modifications en ce qui concerne la flore. Après 24h de conservation, 50% des analyses présentent des faux-positifs. Lors d'une conservation avec réfrigération (entre 3 et 8°C), les changements sont moins importants. Après 2h et 6h de réfrigération, seuls 3 (11%) puis 4 (15%) spécimens voient leur population diminuer sans pour autant que ceci modifie l'interprétation de l'analyse. Après 24h de réfrigération, 17 (65%) spécimens contiennent un nombre de bactérie similaire aux urines fraîches. Sur les spécimens modifiés, seuls 2 (7%) ont entraîné des erreurs d'interprétation.

Pour les spécimens envoyés par la poste, de nombreuses modifications ont eu lieu. Les temps d'envoi étaient de 24 à 106h. Les températures auxquelles les spécimens ont été soumis ne sont pas connues. Trente-cinq pourcent d'erreurs ont été répertoriés dans cette étude.

Il est déduit de cette étude que les spécimens conservés à température ambiante ou envoyés par courrier sans être maintenus au frais ne sont pas utilisables pour une culture bactérienne. Il est fortement conseillé de réaliser une culture directement après récolte. Si ce n'est pas possible, une réfrigération doit être mise en place précocement. (Padilla et al., 1981)

III.1.2. Influence de la conservation à l'acide borique

L'acide borique a été utilisé durant 20 ans pour préserver l'urine en transit pour examen bactériologique en médecine humaine (Meers, Chow, 1990). En 1969, Porter et Brodie décrivent l'utilisation de cet acide à une concentration de 18g/L afin de préserver l'urine (Porter, Brodie, 1969). Bien que l'urine soit un milieu de culture, ils ont montré que l'ajout d'acide borique permettait au nombre de bactéries du spécimen de ne pas être modifié sur une durée de 48h à température ambiante. L'ion borate a en effet des propriétés bactériostatiques qui maintiennent un environnement stable pour la croissance de bactéries pathogènes en limitant la contamination du spécimen (Meers, Chow, 1990).

Peu de données vétérinaires sont disponibles pour étudier les conservateurs.

Guenther et al. (1981) ont étudié l'effet conservateur d'un kit commercial de prélèvement urinaire (B-D urine culture kit, Becton-Dickinson Co, Rutherford, NJ) contenant de l'acide

borique, du glycérol et du formiate de sodium sur des urines humaines conservées 24h et 48h à 25°C. La solution permet de maintenir la concentration bactérienne stable les 24 premières heures. Ils affirment cependant qu'un tiers des spécimens voient leur population bactérienne diminuer et qu'il est donc nécessaire de faire attention lors de l'interprétation d'un résultat négatif. De plus, le résultat n'est pas satisfaisant sur 48h.

Afin d'étudier l'effet de ce conservateur chez le chien, Allen et al. (1987) ont réalisé une étude sur 115 individus suspectés d'être atteints d'ITU. L'étude a porté sur le même B-D kit que l'étude de Guenther et al. L'influence de ce conservateur sur des urines stockées 72h à 4°C a été étudiée. La conservation des urines par cette méthode a été efficace durant 3 jours, soit deux jours de plus qu'avec une conservation chimique seule (Guenther, Washington II, 1981). La durée d'un envoi étant approximativement 72h, un envoi est possible en combinant réfrigération et conservation chimique.

Perrin, Nicolet, (1992) ont étudié l'effet du conservateur sur des urines prélevées par miction spontanée, sondage ou cystocentèse. L'analyse a été effectuée d'une part sur des urines prélevées dans leur clinique, et d'autre part sur des urines envoyées par d'autres cliniques.

Les premières sont mises en culture puis le reste est divisé en deux groupes : le premier dans un tube simple, l'autre dans un tube avec conservateur, et les urines sont par la suite mises en culture après 24h et 48H à 20°C. La référence utilisée ici est la culture sur urine fraîches

Les urines envoyées par courrier sont préalablement placées dans un tube sec ou dans un tube avec conservateur. La référence est la culture des urines envoyées dans le tube avec conservateur.

Il est montré dans cette étude qu'une conservation à 20°C durant 24 à 48 h dans des tubes conventionnels entraîne un nombre important de faux-positifs (26% et 40% respectivement), tandis qu'aucune variation significative n'est observée dans des tubes avec conservateurs.

Les mêmes résultats sont obtenus sur les spécimens envoyés par courrier : le nombre de faux-positifs dans les tubes sans conservateurs est important (53%).

Cette étude a permis de montrer que l'ajout d'acide borique est une bonne méthode pour préserver les urines à température ambiante, et que l'emploi de tubes secs pour l'envoi par courrier est inadapté. (Perrin, Nicolet, 1992). Aucune différence n'est notée entre les différents modes de collecte.

Rowlands et al. (2011) ont effectué une étude sur 200 chiens étudiant l'effet de l'acide borique sur la conservation d'urines prélevées par cystocentèse uniquement.

Les urines prélevées sont divisées en trois aliquotes. La première est mise en culture dans l'heure suivant la collecte, les deux autres sont placées respectivement dans un tube sec ou un tube contenant un conservateur, puis conservées 7h avant d'être envoyées par courrier. Elles sont mises en culture une fois arrivées au laboratoire.

Cette étude montre que le nombre de faux-positif n'est pas significativement différent suite à l'envoi par courrier avec ou sans conservateur. Cependant les spécimens envoyés dans de l'acide borique présentent un nombre de faux-négatif plus important que les tubes secs.

Cette étude ne montre pas d'intérêt à ajouter de l'acide borique dans des urines collectées par cystocentèse, lorsque leur culture se fait après au moins 24h à température ambiante (valeurs considérées pour l'envoi par courrier).(Rowlands et al., 2011).

Ce résultat (Rowlands et al., 2011) est en contradiction avec des études précédentes ayant montré une diminution des faux-positifs lors de l'ajout de conservateurs. ((Jefferson et al., 1975), (Watson, Duerden, 1977), (Padilla et al., 1981)). Rowlands et al. (2011) expliquent cela par le fait que pour ces études, les urines ont été obtenues par miction spontanée ou sondage, et donc beaucoup plus contaminées que les spécimens obtenus par cystocentèse. Or l'ampleur de la modification dépend de la concentration bactérienne initialement présente (Padilla et al., 1981).

Ceci montre bien qu'il est important de prendre en compte tous les facteurs pré-analytiques pouvant rentrer en jeu dans la conservation des urines. L'augmentation du nombre de faux-négatifs résulte selon Rowlands et al. d'effet toxiques non spécifiques de l'acide borique sur des bactéries pathogènes, précédemment reporté ((Watson, Duerden, 1977), (Meers, Chow, 1990)(Rowlands et al., 2011)).

Cette étude suggère donc que l'ajout d'acide borique dans les urines collectées par cystocentèse n'augmente pas la fiabilité de la culture bactérienne quand celle-ci est différée par le transport des urines à température ambiante.

Une étude, réalisée en 2016 sur 4 chiens étudie l'influence de la durée de conservation, de la température de conservation et de la présence de conservateurs sur la culture bactérienne quantitative des urines.(Patterson et al., 2016)

Les urines sont collectées après euthanasie des chiens : par sondage pour le mâle, et taxis externe pour les femelles. Elles sont stérilisées par filtration, puis conservées une nuit à 4°C et divisé en 6 aliquotes le jour suivant.

Chaque aliquote est inoculé avec des E. coli. On atteint au final une concentration d'environ 10⁵ UFC/mL. Un millilitre de chacune des aliquotes est transféré stérilement dans 5 tubes SCTs (sans conservateur) et 5 UTTs (avec conservateurs : formate de sodium, borate de sodium, acide borique). Les tubes sont soumis à culture immédiatement, ou conservés 8h ou 24h avant inoculation sur gel. Les tubes soumis à conservation sont séparés en deux groupes et conservés à température ambiante 25°C ou à température de réfrigération 4°C. Les colonies sont comptées manuellement le lendemain, suite à une nuit d'incubation.

Pour une même température de stockage, la concentration bactérienne médiane diminue significativement au cours du temps quel que soit le tube utilisé. Cependant, pour les tubes sans conservateurs stockés à 25°C durant 24h, celle-ci passe sous le seuil de détermination d'une bactériurie (<10³ UFC/mL), entraînant potentiellement un échec dans le diagnostic d'ITU. Ceci n'est pas retrouvé pour les tubes avec conservateur. Aucune différence significative n'est notée entre les deux températures.

Les résultats indiquent que les spécimens collectés dans les deux tubes peuvent être laissés à température ambiante ou réfrigérés jusqu'à 8h sans changement significatif. Quand des urines sont stockées sans conservateurs à température ambiante pendant 24h, les résultats ne reflètent pas la bactériurie initiale. Les urines stockées sans conservateurs et réfrigérées 24h peuvent cependant être utilisables.

III.2. Densité urinaire et formation de cristaux

Un certain nombre de facteurs influencent la formation de cristaux : température, temps, évaporation, pH, croissance bactérienne productrice d'uréases. Lors du prélèvement et de la conservation des urines, il peut y avoir des modifications de la composition urinaire étant à l'origine de la formation de cristaux. Il est donc nécessaire d'interpréter une cristallurie avec circonspection, surtout si celle-ci n'a pas été visualisée sur urines fraîches (Albasan et al., 2003).

Les études précédentes nous ont montré que la réfrigération est un mode de conservation souvent utilisé lors d'analyses différées des urines. Certaines observations cliniques laissent cependant penser que la réfrigération peut favoriser la formation de cristaux.

Albasan et al. ont donc réalisé une étude sur 31 chiens et 8 chats afin d'évaluer les effets de la température et du temps de conservation sur la formation de cristaux et leur composition, mais également sur le pH et la densité urinaire.

A température ambiante, le nombre de cristaux formés en 24h est significativement supérieur à celui formé en 6h pour les oxalates de calcium (22% contre 11% d'individus concernés). Après réfrigération, le nombre de cristaux est supérieur à ceux formés à température ambiante, quelle que soit l'heure considérée (100% et 44% à 24h et 6h). Aucune modification significative n'a été observée pour les cristaux de struvite.

Concernant la taille des cristaux d'oxalate de calcium, elle est significativement augmentée lors de réfrigération.

Bien qu'aucun effet significatif du temps et de la température sur le pH urinaire, ni sur la densité n'a été montré, cette étude montre une augmentation de la formation de cristaux d'oxalate de calcium lors de la réfrigération des urines. Ceci peut entraîner des erreurs d'interprétations, par la présence de faux-positifs. Cette étude indique de nouveau qu'il est préférable dans la mesure du possible d'observer les urines fraîches. (Albasan et al., 2003)

Elle démontre cependant également la subtilité des conditions de conservations dans lesquelles sont placées les urines selon l'analyse à réaliser. Comme l'ont montré les précédentes études, pour étudier la bactériurie ou conserver certaines caractéristiques chimiques des urines, une réfrigération est recommandée. Cependant pour l'étude d'un risque de cristallurie, une conservation par réfrigération entraîne un nombre important de faux-positifs ne permettant donc aucune interprétation fiable.

III.3. Influence de la congélation sur le sédiment urinaire

Un obstacle à l'analyse d'urine peut être la formation de précipités. Certains composants urinaires sont piégés dans ce précipité et ne seront pas pris en compte dans l'analyse, ce qui peut aboutir à des erreurs d'interprétation (Saetun et al., 2009).

Une étude réalisée en médecine humaine a étudié le sédiment urinaire après un stockage d'une nuit à -20°C. Un sédiment est toujours présent lorsque les urines sont conservées dans ces conditions. Il est quasiment toujours de même composition : oxalate de calcium dihydrate (COD) de forme bipyramidale, cristaux amorphes, cellules épithéliales et débris. L'ajout

d'EDTA permet de diminuer de manière significative le nombre de sédiments induits par la congélation à environ 25% du taux initial.

La présence de ces sédiments varie avec la température. Aucun sédiment ne se retrouve à une température de 4°C. On en retrouve lorsque l'on place les urines à températures négatives, et aucune différence n'est présente entre une conservation à -20°C ou -70°C (Saetun et al., 2009).

Les sédiments peuvent significativement affecter les analyses de routine. Il est important de tenir compte de ces modifications après congélation et il peut être intéressant de mélanger de manière vigoureuse les spécimens après décongélation pour dissoudre à nouveau les sédiments avant analyse. (Saetun et al., 2009)

Aucune étude n'a cependant été réalisée en médecine vétérinaire à propos de l'influence de la température sur les sédiments à notre connaissance.

III.4. Protéines et enzymes urinaires : albumine, rétinol-binding-protein (RBP) et N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG)

Une étude réalisée sur 11 chiens a étudié la concentration de marqueurs urinaires au cours du temps selon la température de stockage, notamment lors de congélation. Il a également été étudié l'influence de l'apport d'inhibiteur de protéase sur des spécimens conservés à -80°C pendant 12 mois. (Pascale M. Y. Smets et al., 2010)

III.4.1. Influence de la température au cours du temps sur leur concentration ou activité

Les résultats de l'étude sont :

- Conservation des urines durant 4 mois à -20°C : absence de différence significative pour l'albuminurie. La concentration de la RBP diminue et la NAG a une activité plus faible.
- Conservation des urines durant 12 mois à -20°C : diminution de l'albuminurie et de l'activité de la NAG par rapport à t₀. Cependant, pas de différence en ce qui concerne la RBP.
- Conservation des urines durant 12 mois à -80°C : seule la NAG voit son activité diminuer significativement.

En conclusion les spécimens pour analyse de l'albuminurie et de la concentration en RBP peuvent être stockés à -20°C durant 4 mois tandis que pour un stockage d'un an, -80°C est une

température plus adéquate. La NAG est moins stable aux températures négatives avec perte d'activité substantielle après 4 mois à -20°C et une diminution plus sévère au bout de 12 mois à -80°C.

III.4.2. Influence de l'inhibiteur de protéase sur leur concentration ou activité

Pascale M. Y. Smets et al. (2010) ont étudié l'effet de l'ajout d'un inhibiteur de protéases. L'analyse n'est réalisée qu'après 12 mois de stockage à -80°C. Aucune différence significative n'est montrée entre les spécimens avec et sans inhibiteur de protéase (PI). Les résultats suggèrent que l'addition de PI ne préserve pas l'activité de la NAG après une conservation à long terme à -80°C.

En médecine humaine, des résultats contradictoires sont mentionnés sur la stabilité de l'albumine. Les résultats de Smets et al. (2010) sont en accord avec des études précédentes ne décrivant pas de modification significative d'albuminurie après conservation à -20°C durant 6 mois (Brinkman, 2005). Cependant d'autres détectent une diminution de cette concentration de 20% après 6 mois à -20°C (Schultz et al., 2000).

Il est cependant important de noter que l'étude de Smets et al. (2010) présente des limites. Les urines ont été analysées à seulement 3 temps bien distincts : T0 puis T4 et 12mois. L'étude porte de plus sur un petit groupe d'individus et l'effet de l'ajout d'inhibiteur de protéase n'est observé que dans un seul groupe de conditions : -80°C après 12mois.

Nous avons donc pu mettre en évidence durant cette étude bibliographique que de nombreux facteurs pré-analytiques influencent les résultats d'analyse d'urine. Peu de recherches sont cependant disponibles en médecine vétérinaire et la grande variété des schémas expérimentaux rend difficile les comparaisons. Celles-ci portent surtout sur l'influence de la durée et de la température de conservation sur différentes variables urinaires.

Concernant la technique de collecte, les publications trouvées étudiaient principalement leur influence sur la culture bactérienne.

Notre seconde partie s'intéresse à l'influence de 3 méthodes de collecte sur les résultats de l'analyse d'urine physico-chimique et cytologique chez le chien.

PARTIE B : ETUDE EXPERIMENTALE

*Étude visant à préciser l'influence du mode de collecte
des urines sur leur analyse physico-chimique et
cytologique chez le chien*

I. Matériel et méthode

L'étude a été réalisée de Janvier 2016 à Juin 2016 et a été validée par le Comité d'Ethique en expérimentation animale sous le numéro d'enregistrement SSA 115.

I.1. Animaux / Spécimens

I.1.1. Critères d'inclusion

Les animaux inclus dans l'étude sont des chiens présentés à l'école vétérinaire de Toulouse pour consultation ou hospitalisation.

Tout chien nécessitant une analyse d'urine complète et/ou une analyse du RPCU pour raison médicale peut être inclus dans l'étude. De même, tout chien sain dont les propriétaires souhaitent participer à l'étude peut également y être inclus.

Les chiens ne sont inclus dans l'étude qu'après information complète du propriétaire. La signature d'un consentement éclairé (Annexe 1) atteste de leur accord.

I.1.2. Critères d'exclusion

I.1.2.1. Exclusion initiale

Aucun critère d'exclusion initiale

I.1.2.2. Exclusion au laboratoire

Les individus peuvent être exclus de l'étude après leur prélèvement pour quatre raisons :

- Le volume d'urine collecté est inférieur à 2 mL par prélèvement
- Le délai de prélèvement est supérieur à 6h entre le premier et le dernier prélèvement, soit entre la miction spontanée et la cystocentèse
- Les urines sont macroscopiquement contaminées suite à la collecte.
- Les urines sont hématuriques suite à la collecte. Il s'agit d'urines dont la couleur est modifiée macroscopiquement (rouges, oranges, marrons), et dont l'analyse microscopique a mis en évidence une hématurie, c'est-à-dire plus de 5 globules rouges par champs au grossissement

x400. Les urines colorées macroscopiquement, mais dont l'analyse microscopique ne met pas en évidence d'hématurie sont uniquement pigmenturique et non exclues de l'étude.

I.1.3. Chiens sélectionnés et identification durant l'étude

Un minimum de 60 chiens est inclus dans l'étude.

Chaque individu est associé à une fiche d'accompagnement de prélèvements (Annexe 2) et à une fiche d'analyse sur laquelle ne sera mentionné que son numéro d'étude (Annexe 3), afin de préserver l'anonymat.

La première fiche permet d'identifier l'animal et d'avoir des données cliniques et biologiques le concernant. La seconde permet de centraliser les données concernant son analyse d'urine tout au long du protocole.

Chaque chien est identifié de la manière suivante : CUPROT X, X correspondant à son numéro d'inclusion dans l'étude. Tous les chiens initialement inclus dans l'étude seront identifiés de la sorte et conserveront leur numéro même après exclusion dans le cas échéant. Ils seront ainsi répertoriés.

Les individus sont classés en trois groupes selon leur gabarit, le gabarit étant le poids de forme estimé du chien prélevé :

- Gabarit 1 pour les chiens dont le poids de forme est estimé inférieur à 15kg
- Gabarit 2 pour les chiens entre 15 et 35kg
- Gabarit 3 pour les chiens dont le poids est supérieur à 35kg

I.1.4. Prélèvements urinaires

L'urine de chaque chien est prélevée selon trois méthodes différentes, dans un ordre définit : miction spontanée simple, miction spontanée après nettoyage de la sphère uro-génitale et cystocentèse écho-guidée.

I.1.4.1. Miction spontanée simple

Les poils autour de la zone uro-génitale sont coupés à l'aide de ciseaux s'ils sont longs, afin d'éviter une contamination du prélèvement.

L'urine est collectée à l'aide d'une barquette (Caissipack®) propre et exempte de tout poil, poussière ou produit nettoyant risquant de biaiser l'analyse d'urine. La collecte se fait en limitant le contact avec les poils de la zone uro-génitale. Si une contamination majeure du spécimen a lieu, celui-ci est jeté.

I.1.4.2. Miction spontanée après nettoyage de la zone uro-génitale.

Pour les femelles, la vulve est nettoyée à l'aide de compresses imbibées d'eau tiède non stérile.

Pour les mâles, le fourreau est rincé, à l'aide d'une seringue de 20mL remplie d'eau tiède non stérile. Le rinçage est effectué jusqu'à ce que l'eau ressortant du fourreau semble propre. L'extrémité du fourreau est nettoyée à l'aide de compresses imbibées d'eau tiède non stérile.

L'urine est collectée à l'aide d'une barquette (Caissipack®) propre et exempte de tout poil, poussière ou produit nettoyant risquant de biaiser l'analyse d'urine. La collecte se fait en limitant le contact avec les poils de la zone uro-génitale. Si une contamination majeure du spécimen a lieu, celui-ci est exclu.

I.1.4.3. Cystocentèse écho-guidée

Le chien est placé en décubitus dorsal dans un coussin de contention.

La peau de la zone de prélèvement n'est pas forcément tondue. Un nettoyage est réalisé à l'aide de gluconate de Chlorhexidine (Hibitane 5%). Cette solution permet également de créer une fenêtre acoustique.

La vessie est visualisée par échographie dans son grand axe en coupe longitudinale. L'image choisie afin de guider la cystocentèse est celle permettant d'obtenir la plus grande surface sur l'écran.

Une aiguille bleue de 23G (BD Microlance™ 3 – Becton Dickinson S.A.) montée sur seringue stérile de 10 mL (Terumo) est introduite dans la vessie crânialement à la sonde échographique tout en étant visualisée sur l'écran. L'urine est ensuite aspirée dans la seringue.

Pour chaque prélèvement, un volume minimal de 2mL d'urine est collecté, soit 6mL par chien au minimum.

I.2. Préparation des urines

I.2.1. Transfert des urines dans les tubes

Les urines sont transférées dans 4 tubes Eppendorf classiques[®], préalablement identifiés.

Cette identification est faite de la façon suivante :

- Les prélèvements effectués par miction spontanée simple portent l'inscription MAS (Miction naturelle Sans nettoyage) suivi du numéro d'étude du chien considéré : MAS 1 à MAS X.
- Les prélèvements effectués par miction spontanée avec nettoyage de zone uro-génitale portent l'inscription MAN (Miction avec Nettoyage) suivi du numéro d'étude du chien considéré : MAN 1 à MAN X.
- Les prélèvements effectués par cystocentèse écho guidée portent l'inscription CYS (Cystocentèse) suivi du numéro d'étude du chien considéré : CYS 1 à CYS X.

Les tubes sont ensuite amenés au laboratoire central de l'ENVT avec les fiches d'accompagnement de prélèvement et d'analyse.

I.2.2. Délai entre collecte et analyse au laboratoire central

Un délai maximal de 2h est respecté entre la collecte et la préparation des spécimens (Rabinovitch, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009). L'urine destinée à la mesure différée du RPCU est congelée à -80°C dans les 2h suivant la collecte. L'analyse du RPCU est réalisée maximum 72h après congélation pour le spécimen placé à -80°C (Rossi et al., 2012, Théron et al. Up ahead publication AJVR).

I.2.3. Centrifugation

Les tubes Eppendorf sont centrifugés dans 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) (Rabinovitch, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009).

Le surnageant est utilisé pour préparer les spécimens liquides.

I.2.4. Aliquotage et préparation des spécimens liquides

Le surnageant est extrait à l'aide d'une pipette à usage unique « pastette » (pipette pasteur plastique pointe fine, Copan, Brescia, Italia). Cette extraction est réalisée avec précaution pour éviter une remise en suspension prématurée du sédiment.

Une partie du surnageant (0.5mL) est conservée pour la réalisation des analyses immédiates abordées dans les paragraphes I.3.1., I.3.2., I.3.3.

Le surnageant restant est ensuite placé dans un tube Eppendorf préalablement identifié MAS 1 à X, MAN 1 à X ou CYS 1 à X. Ce tube est conservé à -80°C pour l'analyse ultérieure du RPCU dans un délai maximum de 72h. La mention « -80 » est alors ajoutée en référence à la température de congélation, et « R » pour l'analyse de RPCU à y effectuer. Selon les modes de prélèvement, les tubes seront donc identifiés comme suit :

- MAS 1 à X, -80, R
- MAN 1 à X, -80, R
- CYS 1 à X, -80, R

I.2.5. Stockage des urines entre collecte et analyses ultérieures

Les tubes identifiés avec la mention « -80, R » sont placés dans une boîte de stockage SARSTEDT. Celle-ci est nommée : « Etude CUPROT, -80, R », et stockée dans un congélateur dont la température est stable et contrôlée à -80°C.

I.2.6. Remise en suspension du sédiment

Le sédiment du spécimen dédié à l'analyse cytologique est remis en suspension avec l'urine résiduelle (0,15mL).

Cette étape est également réalisée avec une « pastette ». Ces deux étapes se font au dernier moment, c'est-à-dire après répartition des urines dans les tubes Eppendorf. La remise en suspension est réalisée par une alternance de pressions et dépressions lentes sur la « pastette » plongée dans l'urine résiduelle.

I.3. Etapes analytiques immédiates

Les étapes décrites dans les paragraphes I.3.1) à I.3.3) sont réalisées pour les spécimens MAS, MAN et CYS pour chaque individu de l'étude.

I.3.1. Bandelette urinaire

Une analyse chimique du surnageant obtenu après centrifugation est réalisée pour chaque animal au moyen de bandelettes urinaires (Combur 10 Test ®, COBAS, Roche Diagnostics Ltd, Rotkreuz, Switzerland).

Pour se faire, toutes les plages contenant les réactifs sont imbibées avec le surnageant. La bandelette est ensuite égouttée afin d'éliminer l'excédent. Les précautions nécessaires sont prises pour qu'aucun mélange de réactif n'ait lieu. La lecture a lieu 70 à 1100 secondes après pénétration du surnageant dans les plages colorées.

I.3.2. Densité urinaire

De la même manière, la densité est mesurée sur le surnageant.

Une goutte de surnageant est disposée sur le réfractomètre optique Atago T2-NE (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japan), dont l'étalonnage à l'eau distillée est réalisé chaque jour.

I.3.3. Examen cytologique du sédiment

Une goutte (environ 6µL) du sédiment remis en suspension est placée sur une lame à bords coupés et à plage dépolie (Thermo Scientific Menzel-Gläser) et recouverte d'une lamelle 22 x 22mm (Menzel-Gläser).

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

I.3.3.1. Analyse préliminaire au faible grossissement (x10)

Une première analyse semi-quantitative est réalisée au faible grossissement. Ceci permet d'apprécier la richesse du prélèvement et la présence éventuelle de cristaux et cylindres. La totalité de la lamelle est observée. La vis micrométrique sera mobilisée afin de faire un premier

tri entre les éléments d'intérêts tels que les cellules, cristaux, cylindres et les artefacts comme les bulles, fibres ou poils.

I.3.3.2. Analyse au fort grossissement (x40)

Dix champs sont sélectionnés en évitant le chevauchement pour ne pas compter plusieurs fois le même élément. Sur chaque champ, les éléments d'intérêt sont comptés, et leur nombre est inscrit dans le tableau 3

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 de comptage des éléments d'intérêts de la cytologie du sédiment urinaire

Tous les résultats sont écrits dans la fiche analyse associée à chaque chien.

Des seuils sont mis en place pour chaque paramètre observé au fort grossissement (x10 x40)

- 10 cristaux/champ
- 100 hématies (GR)/champ
- 50 leucocytes (GB)/champ
- 10 cylindres/champ
- 100 bactéries/champ
- 10 spermatozoïdes/champ

Les éléments comptés au-delà de ces seuils ne sont pas pris en compte dans la numération.

Une moyenne est par la suite calculée sur 10 champs. Elle est utilisée pour l'analyse statistique des résultats.

En ce qui concerne les hématies, les leucocytes et les cellules épithéliales, l'analyse statistique se fera également sur la notion d'absence ou de présence de ces éléments. Pour cela, d'autres seuils seront mis en place.

- S'il y a plus de 5 GR/champ, on en conclue une hématurie
- S'il y a plus de 5 GB/champ, on conclut à une pyurie
- S'il y a plus de 5 cellules épithéliales/champ, on en déduit qu'il y a desquamation.

Si l'un de ces trois paramètres est positifs, on considère que nos urines contiennent un sédiment actif.

Les seuils considérés dans la littérature (Ettinger, Feldman, 2010) sont : 8 globules rouges, blancs ou cellules épithéliales/champ lors de prélèvement par miction spontanée, 5 par sondage et 3 par cystocentèse.

I.3.3.3. Analyse après coloration

Une goutte de sédiment remis en suspension est placée sur une lame propre séchée à l'air libre puis colorée par l'automate de coloration (Coloration May Grünwald et Giemsa modifié). Les lames colorées sont ensuite examinées au microscope à différents grossissements à la recherche de la présence de bactérie et de pyurie. Les images de phagocytoses sont particulièrement recherchées et le nombre de bactéries visibles à l'examen sous immersion (grossissement x1000) est comptabilisé

En fonction de l'examen, l'échantillon est considéré comme :

- Indemne d'infection du tractus urinaire (ITU) et de bactériurie (absence de pyurie et < 10 bactéries comptabilisées sur une moyenne de 20 champs (grossissement x1000))
- Probablement indemne d'ITU (bactériurie minimale : < 10 bactéries sur une moyenne de 20 champs (grossissement x1000) avec pyurie sans image de phagocytose)
- Suspect d'ITU (bactériurie modérée : ≥ 10 bactéries sur une moyenne de 20 champs (grossissement x1000) sans pyurie)
- Atteint d'ITU (bactériurie modérée : ≥ 10 bactéries sur une moyenne de 20 champs (grossissement x1000) avec pyurie et/ou avec images de phagocytose)

I.3.4. RPCU

Le rapport est déterminé au maximum 72h après congélation pour les spécimens identifiés avec la mention « -80,R ».

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 de protéinurie et créatininurie sont reportées sur la feuille d'analyse. Le rapport est par la suite déterminé et noté dans la feuille Excel rassemblant la totalité des résultats de l'étude (Annexe 4).

I.3.5. Contrôle qualité

L'analyseur Indiko Plus est contrôlé tous les jours par la personne responsable des analyses 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.

I.4. Analyses statistiques

Une photocopie de toutes les fiches analytiques concentrant les résultats et les fiches d'accompagnement de l'individu sont rassemblées dans un classeur conservé au laboratoire central de l'ENVT.

Un fichier Excel est complété régulièrement, environ 2 fois par mois durant toute l'étude. Il comprend tous les résultats des analyses effectuées, qu'elles soient immédiates ou ultérieures. Les analyses statistiques sont réalisées à l'issue de l'étude grâce au logiciel Excel et SYSTAT V13.

Les variables quantitatives sont décrites par un modèle général linéaire. Il inclut plusieurs variables quantitatives et permet d'analyser statistiquement la significativité de l'influence du mode de prélèvement sur celles-ci. Dans certains cas, les variables sont qualitatives. Ce modèle ne peut donc plus être utilisé. Une régression logistique binomiale est alors réalisée pour analyser ceci. Dans ce cas, la valeur de p concernant le test réalisé nous informe de sa validité. Par la suite, la valeur de p lors de la comparaison entre les modes de prélèvement nous renseigne sur la significativité de la différence (si $p < 0,05$). Enfin, les risques relatifs sont calculés et nous permettent de conclure sur le risque d'obtenir un résultat en fonction du mode de prélèvement.

II. Résultats

Les résultats distribués normalement sont présentés comme moyenne \pm déviation standard (SD), tandis que les résultats ne suivant pas de distribution spécifique sont présentés comme médiane ; [min-max].

II.1. Description de l'échantillon

II.1.1. Motifs d'inclusion

Soixante-trois chiens ont été initialement inclus dans l'étude. Parmi ces chiens, 53 ne présentaient pas de troubles urinaires connus et l'analyse d'urine a été réalisée dans le cadre d'un bilan de santé. Parmi ces animaux, 3 ne présentaient aucun problème de santé tandis que les autres étaient présentés pour diverses raisons :

Vingt huit individus ont été présentés pour diverses affections ne touchant pas la sphère urogénitale. Elles regroupent entre autres des troubles infectieux, auto-immuns, néoplasiques, endocriniens. Le détail de celles-ci est développé en annexe 5. Sept individus étaient quant à eux présentés pour la réalisation de chirurgie de convenance.

Dix chiens ont fait l'objet d'une analyse d'urine pour explorer de possibles anomalies de la sphère urinaire *sensus lato* :

- Protéinurie (n=3)
- Polyuro-Polyipsie (PuPd) (n=2)
- Insuffisance rénale aigue (IRA) (n=3)
- Infection du tractus urinaire (ITU) (n=2)
- Hématurie, strangurie et pollakiurie (n=1)

Certains animaux peuvent se retrouver dans plusieurs des catégories précédentes ayant justifié l'analyse d'urine.

Le tableau en annexe 5 présente le détail de l'ensemble des affections dont souffrent les animaux inclus dans notre étude.

II.1.2. Motif d'exclusion

Seuls les spécimens macroscopiquement hématuriques par miction spontanée ont été exclus de l'étude. Ils sont au nombre de quatre.

II.1.3. Epidémiologie de la population

Au final, 59 chiens ont été inclus.

La médiane d'âge des chiens inclus dans l'étude est de 6,1 ; [0,6-15,4] ans.

Parmi les individus inclus dans l'étude il y a 19 femelles entières, 11 femelles stérilisées, 25 mâles entiers, et 4 mâles castrés.

Parmi les chiens inclus, 15 (25%) individus sont de gabarit 1, 37 (62%) de gabarit 2 et 7 (13%) de gabarit 3.

Douze femelles sont de gabarit 1 : huit entières et 4 stérilisées, et 3 mâles, 2 entiers et un castré. Le gabarit 2 comprend 16 femelles (10 entières, 6 stérilisées) et 21 mâles (18 entiers et 3 castrés). Au sein du gabarit 3 se trouvent 2 femelles, une entière et une stérilisée, ainsi que 5 mâles entiers.

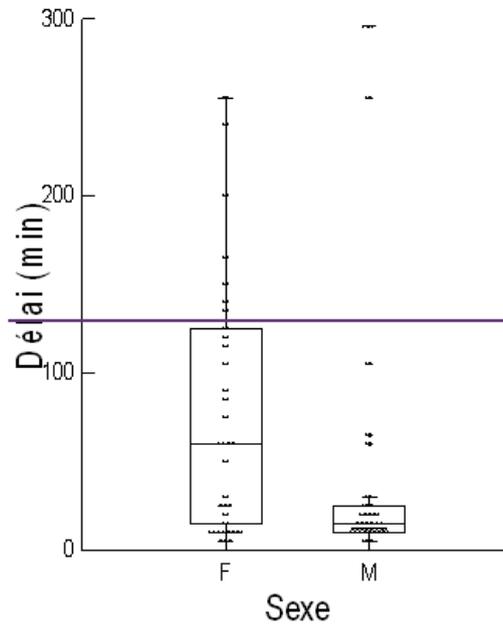
Vingt-neuf races sont représentées au sein de notre échantillon de population. Douze individus sont issus de croisements. Les races les plus représentées sont le Boxer (n=8), le cocker (n=4), le Labrador (n=4). Les races Epagneul breton, Griffon, Malinois, Border Collie, Berger Blanc Suisse, Bouledogue français sont chacune représentées par deux individus. D'autres races sont incluses dans l'étude, chacune représentées par un individu. Le tableau en annexe 6 en récapitule le détail.

II.2. Collecte des urines et description des spécimens

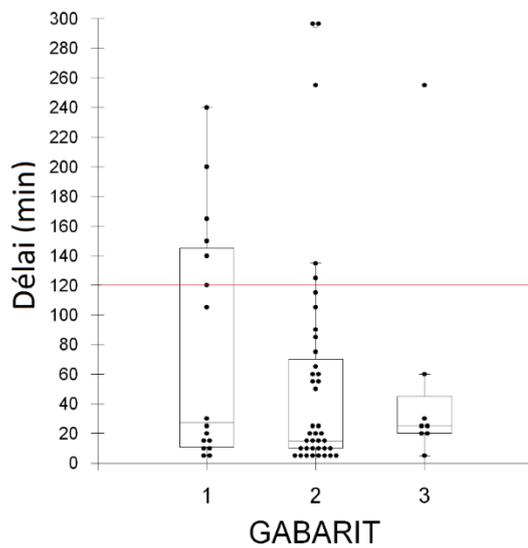
L'ensemble des échantillons a été collecté sans difficulté notable.

II.2.1) Délai entre la collecte du premier et du troisième spécimen et influence des facteurs démographiques sur le délai

- Pour chaque chien, le délai médian entre le premier spécimen (obtenu par miction spontanée) et le dernier (obtenu par cystocentèse) est de 25 ; [5-295] minutes. Dans plus de 80% des cas, les spécimens ont été facilement prélevés par miction spontanée simple ou miction spontanée après nettoyage de la sphère uro-génitale.
- Le délai n'est pas significativement influencé par l'âge du chien ($p=0,25$), le sexe ($p=0,15$) ou le gabarit ($p=0,79$). Le délai de récupération des mâles et des chiens de grand gabarit semble cependant plus court ainsi qu'attesté par les graphiques suivants :



Graphique 1 : Répartition des délais entre les trois collectes d'urine en fonction du sexe des animaux considérés



Graphique 2 : Répartition des délais entre les trois collectes d'urine en fonction du gabarit des animaux considérés

II.2.2) Description macroscopique des spécimens

Cinquante-sept spécimens collectés sont de couleur jaune translucide considérée physiologique.

Deux spécimens sont de couleur modifiée macroscopiquement (jaune orangé et marron), pour les trois modes de collecte. Leur analyse cytologique ne met cependant pas en évidence de globules rouges en quantité importante. La pigmenturie n'étant donc pas liée à une hématurie, les spécimens sont conservés dans l'étude.

II.3) Influence du mode de collecte sur les résultats de l'analyse urinaire

Les détails des valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sont indiqués en annexe pour chaque paramètre.

II.3.1. Influence sur l'aspect macroscopique des urines

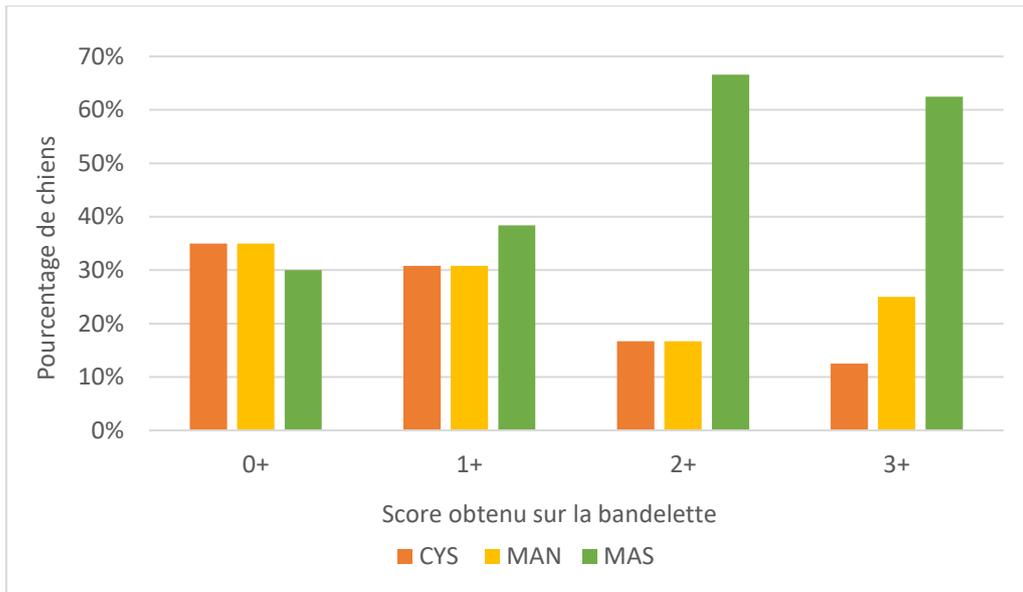
Le mode de collecte n'a pas d'influence sur l'aspect macroscopique des urines. Quel que soit le spécimen considéré, la couleur est identique quel que soit le mode de collecte, y compris pour les deux spécimens dont l'aspect macroscopique n'est pas jaune translucide.

II.3.2. Influence sur la densité

Le mode de prélèvement n'influence pas la densité urinaire de manière significative (Annexe 7).

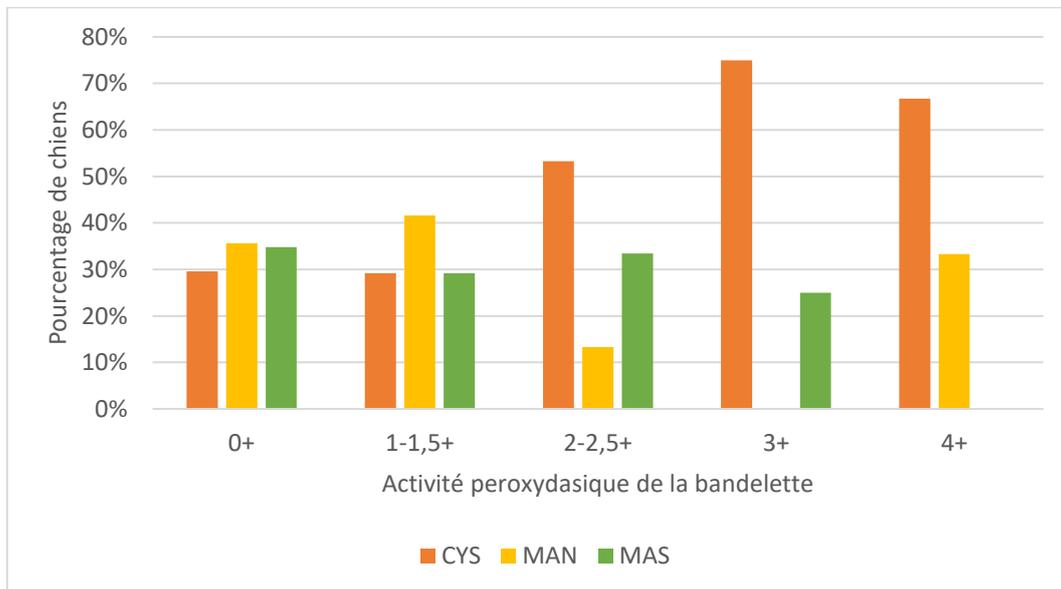
II.3.3. Influence sur les résultats de la bandelette urinaire

Parmi tous les analytes de la bandelette, soit : glucose, bilirubine, corps cétoniques, leucocytes, « sang », pH, protéines, urobiline, nitrites, seul le degré de positivité de la plage leucocytes varie significativement en fonction du mode de collecte ($p=0,04$). Leur concentration est plus élevée pour les prélèvements par MAS (Figure 3).



Graphique 3 : Influence du mode de prélèvement sur le nombre de leucocytes à la bandelette urinaire.

Bien que la variation ne soit pas significative concernant la plage « activité peroxydasique » de la bandelette, la valeur de p est très proche de 0,05 ($p=0,063$). La figure 4 montre l'influence du mode de collecte sur le score obtenu sur cette plage de la bandelette.



Graphique 4 : Influence du mode de prélèvement sur l'activité peroxydasique de la bandelette.

L'ensemble des valeurs de p concernant la densité urinaire et les plages de bandelettes sont répertoriées en annexe 7.

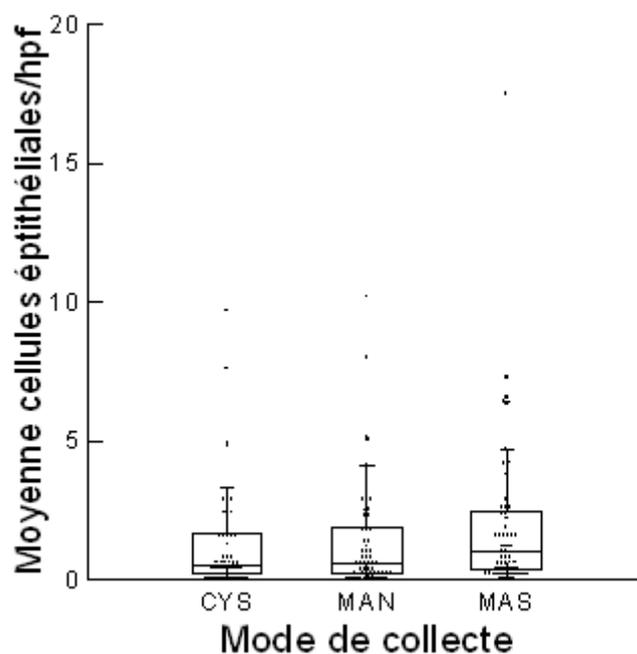
II.3.4. Influence du mode de collecte sur le culot urinaire

Le mode de collecte influence le nombre de cellules épithéliales ($p=0,047$) et le nombre de globules rouges ($p=0,029$), mais n'a pas d'influence significative sur le nombre de leucocytes. Les valeurs de p des différents paramètres du culot urinaire sont répertoriées en annexe 8.

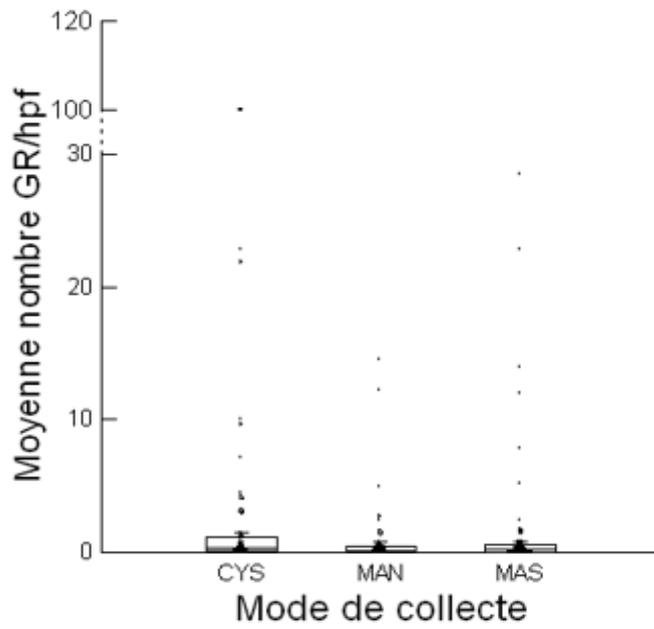
Pour les cellules épithéliales, la médiane est 1,1 ; [0-17,5] cellule/champ par miction spontanée, de 0,6 ; [0-10,2] cellule/champ après nettoyage et enfin de 0,5 ; [0-9,7] par cystocentèse.

Pour les globules rouges, la médiane est 0,2 ; [0-28,5] cellule/champ par miction spontanée, de 0,1 ; [0-14,6] cellule/champ après nettoyage et de 0,3 ; [0-100] par cystocentèse.

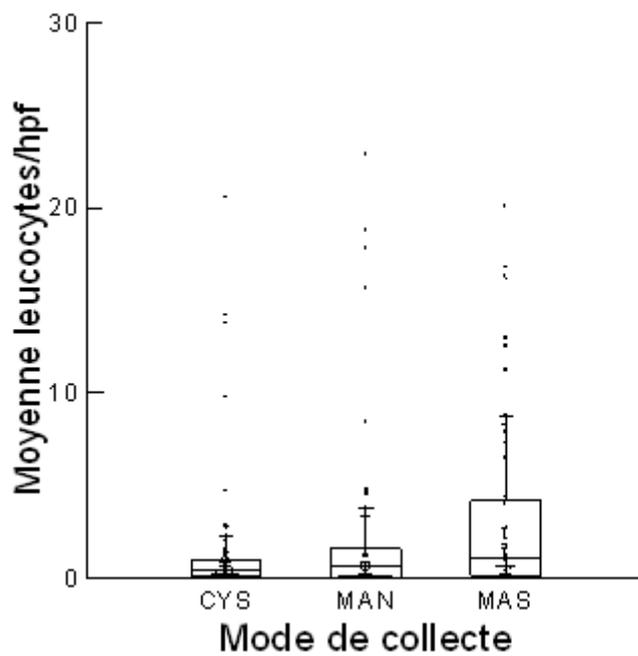
Les trois figures suivantes montrent le nombre de cellules épithéliales, globules rouges ou globule blanc en fonction du mode de collecte.



Graphique 5 : Répartition du nombre moyen de cellules épithéliales en fonction du mode de collecte



Graphique 6 : Répartition du nombre moyen de globules rouges en fonction du mode de collecte



Graphique 7 : Répartition du nombre moyen de leucocytes en fonction du mode de collecte.

II.3.5. Risques relatifs de considérer le prélèvement comme hématurique, pyurique, ou comme étant actif selon le mode de collecte.

II.3.5.1. Influence sur la présence d'une pyurie (> 5 GB/champs au x400)

Les résultats montrent une différence significative entre les prélèvements MAS et MAN, ainsi que MAS et CYS pour considérer le prélèvement comme pyurique.

D'après la valeur des risques relatifs, déterminés après régression logistique binomiale, il y a 3,3 fois plus de risques d'objectiver une pyurie par MAS que par MAN ($p=0,009$), et 3,8 fois plus de risques par MAS que par CYS ($p=0,016$).

Il n'y a pas de différence significative entre CYS et MAN ($p=0,769$).

II.3.5.2. Influence sur la présence d'une hématurie (> 5 GR/champs au x400)

Il n'y a pas de différence significative entre MAS et MAN ($p=0,160$) ni entre MAS et CYS ($p=0,566$).

Il y a cependant 4,5 fois plus de risque d'obtenir une hématurie par CYS que par MAN ($p=0,044$).

II.3.5.3. Influence sur la présence d'une desquamation (> 5 cellules épithéliales/champs au x400)

Aucune différence significative n'est notée entre les trois modes de collecte.

II.3.5.4. Influence sur la présence d'une sédiment actif (présence de l'une des trois anomalies préalables)

L'objectivation d'un sédiment actif selon l'analyse microscopique est significativement affectée par le mode de prélèvement.

Il y a 2,9 fois plus de risque de classer le sédiment comme étant actif par MAS que par MAN ($p=0,008$).

Il y a 2,5 fois plus de risque de classer le sédiment comme étant actif par MAS que par CYS ($p=0,023$).

Aucune différence significative n'est notée entre MAN et CYS ($p=0,66$).

Mode de collecte	CYS	MAS	MAN
	Risque relatif d'observer une pyurie (valeur de p)		
CYS		3,8 (p=0,016)	p=0,77
MAS	0,3 (p=0,016)		0,3 (p=0,009)
MAN	p=0,77	3,3 (p=0,009)	
	Risque relatif d'observer une hématurie (valeur de p)		
CYS		p=0,566	0,22 (p=0,044)
MAS	p=0,566		p=0,16
MAN	4,5 (p=0,044)	p=0,16	
	Risque relatif d'observer un sédiment actif (valeur de p)		
CYS		2,5 (p=0,024)	p=0,66
MAS	0,4 (p=0,024)		0,34 (p=0,008)
MAN	p=0,66	2,9 (p=0,008)	

Tableau 4 : Risques relatifs d'observer des modifications de l'analyse du sédiment en fonction du mode de collecte

Les valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sur la présence d'hématurie, de pyurie de desquamation microscopique ou de classification du sédiment comme étant actif sont répertoriées en annexe 9.

II.4. Influence du mode de collecte sur le diagnostic cytologique d'infection du tractus urinaire

Une ITU a été suspectée pour 16 spécimens obtenus par miction spontanée, 10 par miction après nettoyage et 8 par cystocentèse. La valeur de p montre que le mode de prélèvement n'a pas d'influence significative sur l'observation d'images microscopiques en faveur d'ITU.

II.5. Influence mode de collecte sur la créatininurie, la protéinurie et le RPCU

La créatininurie et la protéinurie ne dépendent pas du mode de collecte.

En se basant sur le RPCU obtenu sur les prélèvements par cystocentèse, considérée actuellement comme la méthode de collecte de référence déterminer un RPCU (White et al., 1984), 39 chiens n'étaient pas protéinuriques (médiane 0,07 ; [0,04-0,19]), 7 douteux (médiane 0,24 ; [0,22-0,49]) et 13 protéinuriques (médiane 4,07 ; [0,54-12,4]), selon les seuils IRIS. (Lees et al., 2005)

Le RPCU n'est pas influencé par le mode de collecte.

Les valeurs de p évaluent l'influence du mode de collecte sur la créatininurie, la protéinurie et le RPCU sont répertoriées en annexe 10.

Nous pouvons cependant voir que 6 individus présentent un changement de catégorie IRIS selon le mode de prélèvement. Les valeurs de RPCU restent cependant si proches que ce changement n'est pas considéré significatif.

Numéro d'individu	Catégorie MAS (valeur RPCU)	Catégorie MAN (valeur RPCU)	Catégorie CYS (valeur RPCU)
3	NP (0,16)	BP (0,3)	BP (0,24)
7	BP (0,4)	BP (0,38)	P(0,59)
18	NP (0,18)	NP (0,19)	BP (0,22)
21	BP (0,29)	BP (0,25)	NP (0,19)
28	NP (0,14)	NP (0,14)	BP (0,22)
53	BP (0,42)	BP (0,45)	P (0,54)

Tableau 5 : Changement de catégorie IRIS en fonction du mode de collecte

NP = non protéinurique ; BP = borderline protéinurique ; P = protéinurique

III) Discussion

Afin d'étudier l'influence du mode de collecte sur l'analyse physico-chimique et cytologique des urines, nous avons prélevé les urines par miction spontanée simple puis après nettoyage de la zone uro-génitale et enfin par cystocentèse. Le délai entre les trois collectes varie selon les individus. Bien que celui-ci ne semble pas influencé significativement par le sexe ou le gabarit de l'individu, nous pouvons observer que le délai de récupération des mâles et des chiens de grand gabarit semble plus court. Trois chiens de gabarit 2 présentent des délais plus importants que les autres de ce même gabarit. Ces chiens sont de race Berger Blanc Suisse, Staffordshire Bullterrier et un croisé Labrador. Ce ne sont donc pas de petits chiens de gabarit 2. S'ils avaient été de petite taille, cela aurait pu expliquer un délai plus important, mais ici, le délai plus long entre les trois modes de collecte de ces individus n'est pas expliqué.

Etant donné nos résultats, bien que l'influence des paramètres démographiques des individus ne semble pas influencer significativement le délai de collecte des urines, il pourrait être intéressant d'effectuer une étude comprenant un nombre plus important de chiens afin d'observer si cette tendance devenait significative.

Le mode de collecte des urines influence leur analyse physico-chimique et cytologique selon la majorité des études scientifiques publiées ce jour.

Notre étude nous a permis d'objectiver cette influence sur un certain nombre de paramètres

Bien que de nombreux articles évoquent l'augmentation du risque d'hématurie par cystocentèse, aucune donnée n'a été trouvée concernant l'aspect macroscopique des urines avant leur étude microscopique. Notre étude ne permet pas de mettre en évidence une différence significative de couleur et/ou turbidité des spécimens selon le mode de collecte. En effet, bien que deux spécimens présentent des couleurs différentes de celle considérée physiologique (jaune translucide), la modification est présente quel que soit le mode de collecte, et n'est donc pas due à l'une ou l'autre des méthodes utilisées.

Concernant la densité urinaire, aucune différence significative n'est mise en évidence dans notre étude. Nous ne pouvons rapprocher ce résultat à d'autres études, car aucun article traitant de cette influence n'a été trouvée en médecine canine.

Sur la bandelette urinaire, aucune modification significative n'est observable pour les plages glucose, bilirubine, corps cétoniques, « activité peroxydasique », pH, protéines, urobiline, nitrites au sein de notre étude. Les leucocytes apparaissent quant à eux significativement plus nombreux lors de prélèvement par miction spontanée simple selon cette analyse semi-quantitative. En effet, parmi tous les chiens dont l'urine obtient un score de 2+ sur la bandelette, 66% ont été prélevés par miction spontanée simple, et 17% respectivement pour les deux autres modes de collecte. En ce qui concerne les chiens ayant marqué la plage 3+, 62% ont été prélevés par miction spontanée, 25% par miction spontanée après nettoyage et 13% par cystocentèse. Cette différence peut s'expliquer par le fait que lors de miction spontanée, les leucocytes des régions distales se trouvent dans le spécimen collecté. Tandis que par cystocentèse, seuls les leucocytes présents dans la vessie, et en régions proximales à celle-ci sont pris en compte. La différence de la plage 3+ entre la miction spontanée et la miction spontanée après nettoyage nous laisse penser que lors de miction spontanée simple, il y a contamination du prélèvement par des leucocytes présents dans les régions les plus distales de l'appareil urinaire telles que la vulve, le pénis ou le fourreau. Ces régions étant nettoyées pour le second mode de collecte, une partie de ces leucocytes sont éliminés.

Concernant l'activité peroxydasique, la valeur de p reste proche de 0,05 ($p=0,063$). Nous pouvons estimer être proches de la significativité. Malgré l'absence de significativité, une tendance se dessine au sein de nos résultats. La cystocentèse semble ici entraîner une augmentation du score de la bandelette. Parmi les individus présentant 2-2,5+ de « sang », 53% ont été prélevés par cystocentèse, 34% par miction spontanée et 13% par miction après nettoyage. Parmi les chiens ayant obtenu 3+ de « sang », 75% ont été prélevés par cystocentèse, et 25% par miction simple. Enfin, parmi les chiens ayant obtenu 4+, 67% ont été prélevés par cystocentèse, et 33% par miction après nettoyage. Il semble donc que la cystocentèse soit le mode de collecte entraînant le plus haut score d'activité peroxydasique sur la bandelette. En ce qui concerne les mictions, il est difficile de se prononcer étant donné la contradiction entre les plages 3+ et 4+.

Une étude incluant un nombre plus important de chien pourrait être réalisée dans le but de rendre ces résultats significatifs.

Lors de l'observation des urines au microscope, les résultats sont différents de ceux de la bandelette. Il n'y a pas d'influence significative du mode de collecte sur le nombre de leucocytes. Cependant, le mode de collecte influence significativement le nombre de cellules épithéliales ($p=0,047$), et de globules rouges ($p=0,029$).

Les cellules épithéliales sont en plus grand nombre pour les prélèvements par miction spontanée simple que par miction après nettoyage ou cystocentèse. La comparaison des médianes montre un rapport de quasiment deux entre la médiane du premier mode de collecte et celle des deux autres. (MAS : 1,1 ; [0-17,5] cellule/champ, MAN : 0,6 ; [0-10,2] cellule/champ ; CYS : 0,5 ; [0-9,7]). Ceci peut être expliqué par une desquamation également dans les régions distales de l'appareil urinaire, et par conséquent des cellules étant produites dans les urines lors de miction en plus grand nombre, et éliminées lors de nettoyage ayant une composante mécanique.

Conformément à la tendance observée sur la bandelette, il y a plus de globules rouges par cystocentèse. La miction spontanée simple en présente plus que la miction spontanée après nettoyage. Les écarts sont moins marqués que concernant les cellules épithéliales (MAS : 0,2 ; [0-28,5] cellule/champ ; MAN : 0,1 ; [0-14,6] cellule/champ ; CYS : 0,3 ; [0-100]). L'influence du mode de collecte est cette fois significative.

Différents résultats apparaissent lors de l'observation du sédiment urinaire.

Nous avons pu observer au cours de notre étude qu'il y a 3,3 fois plus de risques d'objectiver une pyurie lors de prélèvement par miction spontanée simple que par miction après nettoyage, et 3,8 fois plus de risques par miction spontanée simple que par cystocentèse. Aucune différence significative n'est observée entre la cystocentèse et la miction spontanée après nettoyage. Ceci est en accord avec les résultats observés précédemment, et permet de conclure que pour ce qui est de la présence d'une pyurie, le prélèvement par miction spontanée après nettoyage de la zone uro-génitale est aussi fiable que la cystocentèse, bien que ce ne soit pas le cas de la miction simple.

Aucune différence significative n'est observée entre les deux mictions, ou entre la miction spontanée simple et la cystocentèse. Il y a cependant 4,5 fois plus de risque d'obtenir une hématurie par cystocentèse que par miction spontanée après nettoyage. En prenant l'analyse par miction spontanée après nettoyage comme référence, ce résultat signifie qu'il y a 4,5 fois plus de risque d'obtenir des faux-positifs en réalisant une cystocentèse. Lorsque l'analyse d'urine est effectuée dans le but d'objectiver une hématurie, la miction spontanée après

nettoyage de la sphère uro-génitale est plus fiable que la cystocentèse. Ces conclusions sont en accord avec celles trouvées dans nos recherches bibliographiques.

Concernant la présence d'une desquamation, aucune différence significative n'est notée entre les trois modes de collecte. Ce résultat est en contradiction avec l'observation du culot urinaire. Ceci est dû au fait que le seuil imposé pour la mise en évidence d'une desquamation est 5 cellules épithéliales/champ. Le comptage du nombre de cellules épithéliales est moins important que ce seuil.

Finalement, il y a 2,9 fois plus de risque de classer le sédiment comme étant actif par miction spontanée simple qu'après nettoyage de la sphère uro-génitale, et 2,5 fois plus de risque de classer le sédiment comme étant actif par miction spontanée simple que par cystocentèse. Aucune différence significative n'est notée entre la cystocentèse et la miction spontanée après nettoyage.

Ces résultats nous permettent ici également d'affirmer que la miction spontanée après nettoyage semble aussi fiable que la cystocentèse pour l'observation d'un sédiment actif. Nous observons une fiabilité même plus élevée pour l'hématurie.

La miction spontanée simple doit cependant être un mode de collecte à considérer moins fiable que les deux autres. En prenant la cystocentèse comme référence, nous observons qu'il y a 3,8 fois plus de risques de faux-positifs concernant la pyurie, ou 2,5 fois plus de risques de faux positifs par mictions spontanée simple pour le sédiment actif.

Concernant l'influence du mode de collecte sur le diagnostic cytologique d'infection du tractus urinaire, une ITU a été suspecté pour 16 spécimens obtenus par miction spontanée, 10 par miction après nettoyage et 8 par cystocentèse. Cela signifie que pour ces prélèvements, une bactériurie modérée a été observée (≥ 10 bactéries sur une moyenne de 20 champs (grossissement x1000) sans pyurie. La valeur de p montre que le mode de prélèvement n'a pas d'influence significative sur l'observation d'images microscopiques en faveur d'ITU. Nos recherches bibliographiques nous ont cependant montré que le mode de collecte avait une influence sur la bactériurie. La plupart des études trouvées s'intéressent à la cystocentèse et la miction spontanée, mais pas à la miction spontanée après nettoyage de la zone uro-génitale. Il aurait pu être intéressant que nous fassions des cultures bactériennes des différentes urines collectées. Nous n'avons cependant pas pu le faire, par soucis d'organisation et de finance. Il serait intéressant qu'une seconde étude dans la continuité de celle-ci soit réalisée en effectuant cette culture bactérienne. La diversité des seuils utilisés en médecine humaine, en fonction du

type de bactérie ou encore des symptômes seraient également un axe de recherche intéressant à réaliser, dans le cas de vétérinaires ne pouvant effectuer de cystocentèse, afin d'effectuer une analyse la plus fiable possible de la bactériologie urinaire par d'autres modes de collecte et de compléter l'étude de Soerensen et al., 2015.

La créatininurie, la protéinurie de même que le RPCU quant à eux, ne sont pas influencés par le mode de collecte selon notre étude.

Ceci est en adéquation avec les articles publiés précédemment. Les modes de collecte étudiés dans ces recherches étaient la cystocentèse et la miction spontanée simple. Notre étude les complète en mettant en évidence l'absence de différence significative lors de collecte des urines par miction spontanée après nettoyage de l'appareil uro-génital.

Nous confirmons donc que la miction spontanée avec ou sans nettoyage de la sphère uro-génitale est un mode de collecte utilisable afin de calculer le RPCU.

Conclusion

La cystocentèse est aujourd'hui considérée comme le mode de collecte de référence afin de réaliser une analyse d'urine complète chez le chien. Elle nécessite cependant une immobilisation de l'animal en décubitus dorsal ou à minima latéral, ainsi que l'insertion d'une aiguille dans la vessie à travers la paroi abdominale. Cette méthode est parfois jugée trop invasive par les propriétaires, préférant alors une collecte par miction.

Au cours de notre étude, nous avons analysé des urines prélevées par miction spontanée simple, ou après nettoyage de la sphère uro-génitale ou encore par cystocentèse. Notre objectif était de montrer qu'avec un nettoyage efficace de la sphère uro-génitale, les urines collectées par miction spontanée pouvaient être utilisées afin de réaliser une analyse cytologique et physico-chimique de celle-ci chez le chien.

Les urines prélevées par miction spontanée simple présentent un certain nombre de différences significatives vis-à-vis des deux autres modes de collecte. Le nombre de leucocytes sur la bandelette est en effet augmenté. Le culot présente quant à lui une augmentation du nombre de cellules épithéliales. Il y a de même plus de risques d'obtenir une pyurie ou un sédiment actif par ce mode de collecte que par les deux autres. La cystocentèse est quant à elle responsable d'une hématurie plus importante que les deux autres modes de collecte. La miction spontanée après nettoyage de la sphère uro-génitale ne présente, mis à part cette hématurie, aucune différence significative par rapport à la cystocentèse.

Notre étude a par conséquent permis de mettre en évidence que l'analyse physico-chimique et cytologique des urines ne présentait que peu de différences significatives entre la miction après nettoyage et la cystocentèse. La seule différence observée, concernant l'hématurie, est en défaveur de ce dernier mode de collecte. La miction spontanée est le mode de collecte présentant le plus de différences significatives par rapport à la cystocentèse. L'analyse des urines, lorsque celles-ci sont collectées par miction spontanée est donc à interpréter avec précautions.

Notre étude n'étudie cependant pas la culture bactérienne en fonction du mode de collecte. Il pourrait être intéressant qu'une étude la complète afin d'étudier ce mode de collecte prometteur.

Bibliographie

ALBASAN, Hasan, LULICH, Jody P., OSBORNE, Carl A., LEKCHAROENSUK, Chalermopol, ULRICH, Lisa K. et CARPENTER, Kathleen A., 2003. Effects of storage time and temperature on pH, specific gravity, and crystal formation in urine samples from dogs and cats. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 janvier 2003. Vol. 222, n° 2, p. 176-179.

ARCHER, Joy, 2005. Urine analysis. In : *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. 2nd Edition. S.l. : Elizabeth Villiers and Laura Blackwood. p. 149-168.

ASPEVALL, O., HALLANDER, H., GANT, V. et KOURI, T., 2001. European guidelines for urinalysis: a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. In : *Clinical Microbiology and Infection* [en ligne]. avril 2001. Vol. 7, n° 4, p. 173-178. [Consulté le 25 février 2017]. DOI 10.1046/j.1198-743x.2001.00237.x. Disponible à l'adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14626719>.

BAGLEY, R. S., CENTER, S. A., LEWIS, R. M., SHIN, S., DOUGHERTY, S. A., RANDOLPH, J. F. et ERB, H., 1991. The effect of experimental cystitis and iatrogenic blood contamination on the urine protein/creatinine ratio in the dog. In : *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*. avril 1991. Vol. 5, n° 2, p. 66-70.

BEATRICE, Laura, NIZI, Francesca, CALLEGARI, Daniela, PALTRINIERI, Saverio, ZINI, Eric, D'IPPOLITO, Paola et ZATELLI, Andrea, 2010. Comparison of urine protein-to-creatinine ratio in urine samples collected by cystocentesis versus free catch in dogs. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association* [en ligne]. 1 juin 2010. Vol. 236, n° 11, p. 1221-1224. [Consulté le 25 avril 2017]. DOI 10.2460/javma.236.11.1221. Disponible à l'adresse : <https://doi.org/10.2460/javma.236.11.1221>.

BIERTUEMPFEL, P. H., LING, G. V. et LING, G. A., 1981. Urinary tract infection resulting from catheterization in healthy adult dogs. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 mai 1981. Vol. 178, n° 9, p. 989-991.

BODNARIU, A., 2008. Indicators of stress and stress assessment in dogs. In : *Lucrări Științifice Medicină Veterinară* [en ligne]. 2008. Vol. 41, p. 20-26. [Consulté le 25 avril 2017]. Disponible à l'adresse : https://www.usab-tm.ro/vol8MV/4_vol8.pdf.

BRINKMAN, J. W., 2005. Falsely Low Urinary Albumin Concentrations after Prolonged Frozen Storage of Urine Samples. In : *Clinical Chemistry* [en ligne]. 1 novembre 2005. Vol. 51, n° 11, p. 2181-2183. [Consulté le 19 septembre 2016]. DOI 10.1373/clinchem.2005.053777. Disponible à l'adresse : <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2005.053777>.

CARTER, J. M., KLAUSNER, J. S., OSBORNE, C. A. et BATES, F. Y., 1978. Comparison of collection techniques for quantitative urine culture in dogs. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 août 1978. Vol. 173, n° 3, p. 296-298.

COMER, K. M. et LING, G. V., 1981. Results of urinalysis and bacterial culture of canine urine obtained by antepubic cystocentesis, catheterization, and the midstream voided methods. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 novembre 1981. Vol. 179, n° 9, p. 891-895.

ETTINGER, Stephen J. et FELDMAN, Edward C. (éd.), 2010. *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat*. 7th ed. St. Louis, Mo : Elsevier Saunders. ISBN 978-1-4160-6593-7. SF991 .T48 2010

FINKE, M. D. et LITZENBERGER, B. A., 1992. Effect of food intake on urine pH in cats. In : *Journal of Small Animal Practice* [en ligne]. juin 1992. Vol. 33, n° 6, p. 261-265. [Consulté le 12 septembre 2016]. DOI 10.1111/j.1748-5827.1992.tb01135.x. Disponible à l'adresse : <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1748-5827.1992.tb01135.x>.

FORTNEY, William D., 2012. Implementing a successful senior/geriatric health care program for veterinarians, veterinary technicians, and office managers. In : *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* [en ligne]. juillet 2012. Vol. 42, n° 4, p. 823-834, viii. [Consulté le 26 avril 2017]. DOI 10.1016/j.cvsm.2012.04.011. Disponible à l'adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561612000757>.

GLEATON, H. K., BARTGES, J. W. et LAFLAMME, D. P., 2001. Influence of diet on urinary pH, urine and serum biochemical variables, and blood-ionized calcium concentrations in healthy dogs. In : *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine*. 2001. Vol. 2, n° 1, p. 61-69.

GUENTHER, K.L. et WASHINGTON II, J.A., 1981. Evaluation of the B-D Urine Culture Kit. In : *Journal of clinical microbiology*. décembre 1981. Vol. 14, n° 6, p. 628-630.

HOOIJBERG, E., LEIDINGER, E. et FREEMAN, K. P., 2012. An error management system in a veterinary clinical laboratory. In : *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* [en ligne]. 1 mai 2012. Vol. 24, n° 3, p. 458-468. [Consulté le 15 septembre 2016]. DOI 10.1177/1040638712441782. Disponible à l'adresse : <http://vdi.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/1040638712441782>.

JEFFERSON, H., DALTON, H. P., ESCOBAR, M. R. et ALLISON, M. J., 1975. Transportation delay and the microbiological quality of clinical specimens. In : *American Journal of Clinical Pathology*. novembre 1975. Vol. 64, n° 5, p. 689-693.

JERGENS, A. E., MCCAWE, D. L. et HEWETT, J. E., 1987. Effects of collection time and food consumption on the urine protein/creatinine ratio in the dog. In : *American Journal of Veterinary Research*. juillet 1987. Vol. 48, n° 7, p. 1106-1109.

KASS, E. H., 1957. Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract; with observations on the use of methionine as a urinary antiseptic. In : *A.M.A. Archives of Internal Medicine*. novembre 1957. Vol. 100, n° 5, p. 709-714.

LABORATOIRE DE BIOLOGIE MÉDICALE BIPOLE, 2017. Manuel de prélèvement Version 6. In : *Biopole* [en ligne]. 2017. [Consulté le 25 avril 2017]. Disponible à l'adresse : <http://www.laboratoirebiopole.com/ckfinder/userfiles/files/Manuel%20de%20pr%C3%A9%20l%C3%A8vement%20Version%206.pdf>.

LEES, George E., BROWN, Scott A., ELLIOTT, Jonathan, GRAUER, Gregory E., VADEN, Shelly L. et AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY INTERNAL MEDICINE, 2005. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (small animal). In : *Journal of Veterinary Internal Medicine*. juin 2005. Vol. 19, n° 3, p. 377-385.

MACLEAY, J. M. et KOHN, C. W., 1998. Results of quantitative cultures of urine by free catch and catheterization from healthy adult horses. In : *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*. avril 1998. Vol. 12, n° 2, p. 76-78.

MADDENS, Bert E. J., DAMINET, Sylvie, DEMEYERE, Kristel, DEMON, Dieter, SMETS, Pascale et MEYER, Evelyne, 2010. Validation of immunoassays for the candidate renal markers C-reactive protein, immunoglobulin G, thromboxane B2 and retinol binding protein in canine urine. In : *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 15 avril 2010. Vol. 134, n° 3-4, p. 259-264. DOI 10.1016/j.vetimm.2009.09.003.

MARYNISSEN, S.J.J., WILLEMS, A.L., PAEPE, D., SMETS, P.M.Y., PICAVET, P., DUCHATEAU, L. et DAMINET, S., 2017. Proteinuria in Apparently Healthy Elderly Dogs: Persistency and Comparison Between Free Catch and Cystocentesis Urine. In : *Journal of Veterinary Internal Medicine* [en ligne]. janvier 2017. Vol. 31, n° 1, p. 93-101. [Consulté le 25 février 2017]. DOI 10.1111/jvim.14635. Disponible à l'adresse : <http://doi.wiley.com/10.1111/jvim.14635>.

MCCAW, D. L., KNAPP, D. W. et HEWETT, J. E., 1985. Effect of collection time and exercise restriction on the prediction of urine protein excretion, using urine protein/creatinine ratio in dogs. In : *American Journal of Veterinary Research*. août 1985. Vol. 46, n° 8, p. 1665-1669.

MEERS, P D et CHOW, C K, 1990. Bacteriostatic and bactericidal actions of boric acid against bacteria and fungi commonly found in urine. In : *Journal of Clinical Pathology* [en ligne]. 1 juin 1990. Vol. 43, n° 6, p. 484-487. [Consulté le 16 septembre 2016]. DOI 10.1136/jcp.43.6.484. Disponible à l'adresse : <http://jcp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jcp.43.6.484>.

MURAT, Philippe, 2003. *La phase pré-analytique des analyses de biologie médicale ; rôle du PHISP : comment le biologiste assure la maîtrise de cette étape?* Mémoire ENSP de Pharmacien Inspecteur de la Santé Publique. Rennes : ENSP.

NOH, Jong-Yun, HAN, Dong-Hee, YOON, Ji-Ae, KIM, Mi-Hee, KIM, Sung-Eun, KO, Il-Gyu, KIM, Khae-Hawn, KIM, Chang-Ju et CHO, Sehyung, 2011. Circadian Rhythms in Urinary Functions: Possible Roles of Circadian Clocks? In : *International Neurourology Journal* [en ligne]. 2011. Vol. 15, n° 2, p. 64. [Consulté le 12 septembre 2016]. DOI 10.5213/inj.2011.15.2.64. Disponible à l'adresse : <http://ejournal.inj.org/view.php?id=10.5213/inj.2011.15.2.64>.

OSBORNE, Carl A., 1995. Three steps to effective management of bacterial urinary tract infections : diagnosis, diagnosis, and diagnosis. In : *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)*. octobre 1995. Vol. 17, n° 10, p. 1233-1249.

OSBORNE, Carl A., STEVENS, Jerry B. et ULRICH, Lisa K., 1999. *Urinalysis: a clinical guide to compassionate patient care*. Leverkusen, Germany : Shawnee Mission, KS : Bayer AG ; Bayer Corp., Agricultural Division, Animal Health. ISBN 978-1-884254-42-0.

PADILLA, J., OSBORNE, C. A. et WARD, G. E., 1981. Effects of storage time and temperature on quantitative culture of canine urine. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 mai 1981. Vol. 178, n° 10, p. 1077-1081.

PALMORE, W. P., GASKIN, J. M. et NIELSON, J. T., 1978. Effects of diet on feline urine. In : *Laboratory Animal Science*. octobre 1978. Vol. 28, n° 5, p. 551-555.

PATTERSON, Carly A., BISHOP, Micah A., PACK, Julie D., COOK, Audrey K. et LAWHON, Sara D., 2016. Effects of processing delay, temperature, and transport tube type on results of quantitative bacterial culture of canine urine. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association* [en ligne]. 15 janvier 2016. Vol. 248, n° 2, p. 183-187. [Consulté le 26 avril 2017]. DOI 10.2460/javma.248.2.183. Disponible à l'adresse : <http://avmajournals.avma.org/doi/10.2460/javma.248.2.183>.

PERRIN, J et NICOLET, J, 1992. Influence of the transport on the outcome of the bacteriological analyses of dog urine. Comparison of three transport tubes. In : *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1992. Vol. 39, p. 662-667.

PETERSON, Mark E., 2007. Diagnosis of Hyperadrenocorticism in Dogs. In : *Clinical Techniques in Small Animal Practice* [en ligne]. février 2007. Vol. 22, n° 1, p. 2-11. [Consulté le 12 septembre 2016]. DOI 10.1053/j.ctsap.2007.02.007. Disponible à l'adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096286707000084>.

PORTER, I. A. et BRODIE, J., 1969. Boric Acid Preservation of Urine Samples. In : *British Medical Journal*. 1969. Vol. 2, p. 353-355.

PRICE, Christopher P., NEWALL, Ronald G. et BOYD, James C., 2005. Use of protein:creatinine ratio measurements on random urine samples for prediction of significant proteinuria: a systematic review. In : *Clinical Chemistry* [en ligne]. septembre 2005. Vol. 51, n° 9, p. 1577-1586. [Consulté le 16 septembre 2016]. DOI 10.1373/clinchem.2005.049742. Disponible à l'adresse : <http://clinchem.aaccjnls.org/content/51/9/1577>.

RABINOVITCH, Albert et CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2009. *Urinalysis: approved guideline*. Wayne, Pa. : Clinical and Laboratory Standards Institute. ISBN 978-1-56238-687-0.

REINE, Nyssa J. et LANGSTON, Cathy E., 2005a. Urinalysis interpretation: How to squeeze out the maximum information from a small sample. In : *Clinical Techniques in Small Animal Practice* [en ligne]. février 2005. Vol. 20, n° 1, p. 2-10. [Consulté le 11 septembre 2016]. DOI 10.1053/j.ctsap.2004.12.002. Disponible à l'adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096286704000982>.

REINE, Nyssa J. et LANGSTON, Cathy E., 2005b. Urinalysis interpretation: How to squeeze out the maximum information from a small sample. In : *Clinical Techniques in Small Animal Practice* [en ligne]. février 2005. Vol. 20, n° 1, p. 2-10. [Consulté le 13 septembre 2016]. DOI 10.1053/j.ctsap.2004.12.002. Disponible à l'adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096286704000982>.

ROWLANDS, M., BLACKWOOD, L., MAS, A., CRIPPS, P., CROMPTON, C. et BURROW, R., 2011. The effect of boric acid on bacterial culture of canine and feline urine. In : *Journal of Small Animal Practice* [en ligne]. octobre 2011. Vol. 52, n° 10, p. 510-514. [Consulté le 16 septembre 2016]. DOI 10.1111/j.1748-5827.2011.01102.x. Disponible à l'adresse : <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1748-5827.2011.01102.x>.

SAETUN, P., SEMANGOEN, T. et THONGBOONKERD, V., 2009. Characterizations of urinary sediments precipitated after freezing and their effects on urinary protein and chemical analyses. In : *AJP: Renal Physiology* [en ligne]. 1 juin 2009. Vol. 296, n° 6, p. F1346-F1354. [Consulté le 19 septembre 2016]. DOI 10.1152/ajprenal.90736.2008. Disponible à l'adresse : <http://ajprenal.physiology.org/cgi/doi/10.1152/ajprenal.90736.2008>.

SCHULTZ, C. J., DALTON, R. N., TURNER, C., NEIL, H. A. et DUNGER, D. B., 2000. Freezing method affects the concentration and variability of urine proteins and the interpretation of data on microalbuminuria. The Oxford Regional Prospective Study Group. In : *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*. janvier 2000. Vol. 17, n° 1, p. 7-14.

SMETS, P. M. Y., MEYER, E., MADDENS, B. E. J., DUCHATEAU, L. et DAMINET, S., 2010. Urinary markers in healthy young and aged dogs and dogs with chronic kidney disease. In : *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* [en ligne]. février 2010. Vol. 24, n° 1, p. 65-72. [Consulté le 26 avril 2017]. DOI 10.1111/j.1939-1676.2009.0426.x. Disponible à l'adresse : <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-1676.2009.0426.x/abstract;jsessionid=1FA9B80F244CBDBDF549C1B669710F21.f03t02>.

SMETS, Pascale M. Y., MEYER, Evelyne, MADDENS, Bert, DUCHATEAU, Luc et DAMINET, Sylvie, 2010. Effect of sampling method and storage conditions on albumin, retinol-binding protein, and N-acetyl- β -D-glucosaminidase concentrations in canine urine samples. In : *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.* novembre 2010. Vol. 22, n° 6, p. 896-902.

SOERENSEN, T.M., JENSEN, A.B et DAMBORG, P.P., 2015. Evaluation of different sampling methods and criteria for diagnosis canine urinary tract infection by quantitative bacterial culture. In : *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2015. Vol. 29, n° 4, p. 380.

STEVENSON, A. E., WRIGGLESWORTH, D. J., SMITH, B. H. et MARKWELL, P. J., 2000. Effects of dietary potassium citrate supplementation on urine pH and urinary relative supersaturation of calcium oxalate and struvite in healthy dogs. In : *American Journal of Veterinary Research*. avril 2000. Vol. 61, n° 4, p. 430-435.

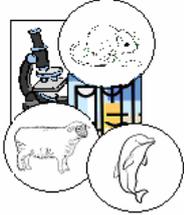
VAN VONDEREN, I. K., KOOISTRA, H. S. et RIJNBERK, A., 1997. Intra- and interindividual variation in urine osmolality and urine specific gravity in healthy pet dogs of various ages. In : *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*. février 1997. Vol. 11, n° 1, p. 30-35.

VAN VONDEREN, I. K., KOOISTRA, H. S. et RIJNBERK, A., 1998. Influence of veterinary care on the urinary corticoid:creatinine ratio in dogs. In : *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*. décembre 1998. Vol. 12, n° 6, p. 431-435.

WATSON, P G et DUERDEN, B I, 1977. Laboratory assessment of physical and chemical methods of preserving urine specimens. In : *Journal of Clinical Pathology*. 1977. Vol. 30, n° 6, p. 532-536.

WHITE, J. V., OLIVIER, N. B., REIMANN, K. et JOHNSON, C., 1984. Use of protein-to-creatinine ratio in a single urine specimen for quantitative estimation of canine proteinuria. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 octobre 1984. Vol. 185, n° 8, p. 882-885.

Annexe 2 : Fiche d'accompagnement de prélèvement

 	<p align="center">Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée¹ Unité de Médecine Interne des Carnivores Domestiques²</p> <p align="center">ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France</p> <p>1 ☎ : +33 561 193 831; mail c.trumel@envt.fr 2 ☎ : +33 561 192 319 : mail r.lavoue@envt.fr</p>	<p align="center"><i>Annexe 2</i></p> <p align="center">FICHE DE RENSEIGNEMENT</p>
<p align="center">Étude visant à préciser l'influence du mode de collecte des urines sur leur analyse complète chez le chien</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 ENVT
:.....

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

Questions Préliminaires :

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

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

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

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

3. 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:

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

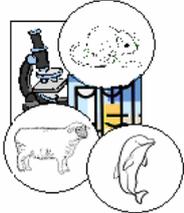
4. Hypothèses diagnostiques

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

5. Commentaires :

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

Annexe 3 : Feuille d'analyse

 <p>INP TOULOUSE ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE</p>	<p>Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée¹ Unité de Médecine Interne des Carnivores Domestiques² ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France 1 ☎ : +33 561 193 831; mail c.trumel@envt.fr 2 ☎ : +33 561 192 319; mail r.lavoue@envt.fr</p>	<p><i>Annexe 3</i> <i>FICHE</i> <i>ANALYTIQUE</i></p>
<p>Étude visant à préciser l'influence du mode de collecte des urines sur leur analyse complète chez le chien</p>		

Numéro d'Identification pour l'Etude :

.....

1. Informations relatives au prélèvement :

6. Volume total d'urine disponible (ml):

- a. Par miction naturelle sans nettoyage de la sphère urogénitale.....
- b. Par miction naturelle avec nettoyage de la sphère urogénitale.....
- c. Par cystocentèse
échoguidée.....

7. Date et Heure de prélèvement des urines :

- a. Par miction naturelle sans nettoyage de la sphère urogénitale.....
- b. Par miction naturelle avec nettoyage de la sphère urogénitale.....
- c. Par cystocentèse
échoguidée.....

8. Heure de dépôt des urines au laboratoire :

- a. Par miction naturelle sans nettoyage de la sphère uro-génitale.....
- b. Par miction naturelle avec nettoyage de la sphère uro-génitale.....
- c. Par cystocentèse
échoguidée.....

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

- a. Par miction naturelle sans nettoyage de la sphère uro-génital
 Oui Non
- b. Par miction naturelle avec nettoyage de la sphère uro-génitale
 Oui Non
- c. Par cystocentèse échoguidée
 Oui Non

Echantillonnage des urines :

1. **Heure de centrifugation :**

- a. Par miction naturelle sans nettoyage de la sphère uro-génitale.....
- b. Par miction naturelle avec nettoyage de la sphère uro-génitale.....
- c. Par cystocentèse
échoguidée.....

2. Heure de rangement à -80°C :

- a. Par miction naturelle sans nettoyage de la sphère uro-génitale.....
- b. Par miction naturelle avec nettoyage de la sphère uro-génitale.....
- c. Par cystocentèse échoguidée.....

3. Remarques / difficultés :

.....
.....

Analyses immédiates :

1. Densité urinaire :

- a. Par miction naturelle sans nettoyage de la sphère uro-génitale.....
- b. Par miction naturelle avec nettoyage de la sphère uro-génitale.....
- c. Par cystocentèse échoguidée.....

2. Bandelettes urinaires (par imbibition des plages réactives) :

- a. Par miction naturelle sans nettoyage de la sphère uro-génitale :

pH :

Densité :

leucocytes		Sang	
nitrites		Cétones	
urobilinogène		Bilirubine	
protéines		glucose	

b. Par miction naturelle avec nettoyage de la sphère uro-génitale :

pH :

Densité :

leucocytes		Sang	
nitrites		Cétones	
urobilinogène		Bilirubine	
protéines		glucose	

c. Par cystocentèse échoguidée :

pH :

Densité :

leucocytes		Sang	
nitrites		Cétones	
urobilinogène		Bilirubine	
protéines		glucose	

3. Analyse du sédiment :

a. Par miction naturelle sans nettoyage de la sphère uro-génitale

Eléments comptés	Champ 1	Champ 2	Champ 3	Champ 4	Champ 5	Champ 6	Champ 7	Champ 8	Champ 9	Champ10
Cristaux (x100)										
Hématie (x400)										
Leucocytes (x400)										
Cylindres (x100)										
Bactérie										
Spermatozoïdes										

Conclusions analyse cytologique / Commentaires :

.....

b. Par miction naturelle avec nettoyage de la sphère uro-génitale

Eléments comptés	Champ 1	Champ 2	Champ 3	Champ 4	Champ 5	Champ 6	Champ 7	Champ 8	Champ 9	Champ10
Cristaux (x100)										
Hématie (x400)										
Leucocytes (x400)										
Cylindres (x100)										
Bactérie										
Spermatozoïdes										

Conclusions analyse cytologique / Commentaires :

.....

c. Par cystocentèse échoguidée :

Eléments comptés	Champ 1	Champ 2	Champ 3	Champ 4	Champ 5	Champ 6	Champ 7	Champ 8	Champ 9	Champ10
Cristaux (x100)										
Hématie (x400)										
Leucocytes (x400)										
Cylindres (x100)										
Bactérie										
Spermatozoïdes										

Conclusions analyse cytologique / Commentaires :

.....

.....

.....

.....

4. Mesure du RPCU dans les 72h post-congélation à -80°C

	Miction naturelle sans nettoyage	Miction naturelle avec nettoyage	Cystocentèse
Date et heure d'analyse			
Protéinurie (mg/L)			
Créatininurie (mg/L)			
RPCU			

5. Remarques / Difficultés :

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

Annexe 4 : Tableau Excel de centralisation des résultats pour les 10 premiers individus de l'étude

n° identificati	type prelage	sexe	gabarit DU	GLUC	BILI	CC	SG	SG prscé	pH	PTN	UROBILI	NIT	LEUK	moy cristaux	moy GR	moy leuc	moy cylindre	se	moy bact	moy spz	moy cell	epitt	Ucreat	Uprot	RPCU	ITU	IRIS STAGE	Délai	Active sed	WBC	RBC	EPITCELL
1	MAS	11,58	FS	2	1,026	0	2	0	0	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	589,8	68	0,11529332		0 NP	90	0	0	0	
1	MAN	11,58	FS	2	1,022	0	1	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	478,1	50	0,10458063		0 NP	90	0	0	0	
1	CYS	11,58	FS	2	1,021	0	2	0	4	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	484,1	57	0,11774427		0 NP	90	0	0	0	
2	MAS	12,18	FS	2	1,019	0	0	0	1	1	6,5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,9	688,7	8228	11,9471468		0 P	50	0	0	0	
2	MAN	12,18	FS	2	1,021	0	0	0	1	1	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,5	729,7	8665	11,874743		1 P	50	0	0	0	
2	CYS	12,18	FS	2	1,022	0	0	0	3	1	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	780,8	9701	12,4244365		0 P	50	1	0	1	
3	MAS	10,86	FS	2	1,006	0	1	0	1	1	6	0,5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0,1	273	43	0,15750916		1 NP	75	1	1	0	
3	MAN	10,86	FS	2	1,007	0	0	0	1	1	6,5	0,5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0,2	263,5	81	0,30740038		1 BP	75	1	1	0	
3	CYS	10,86	FS	2	1,007	0	0	0	1	1	7,5	0,5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0,1	252,6	61	0,24148852		1 BP	75	1	1	0	
4	MAS	5,78	M	2	1,020	0	0	0	2	1	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,6	484,7	5425	11,1924902		1 P	65	1	1	0	
4	MAN	5,78	M	2	1,021	0	1	0	1	1	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,6	487,7	5424	11,1215911		1 P	65	1	1	0	
4	CYS	5,78	M	2	1,021	0	0	0	2	1	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,8	498,4	5436	10,9069021		1 P	65	1	1	0	
5	MAS	1,19	F	2	1,008	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	220,4	78	0,353902		0 BP	85	0	0	0	
5	MAN	1,19	F	2	1,008	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	219,8	78	0,35486806		0 BP	85	0	0	0	
5	CYS	1,19	F	2	1,007	0	0	0	0	0	5,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	227,5	112	0,49230769		0 BP	85	0	0	0	
6	MAS	6,62	FS	2	1,043	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	2052,4	189	0,09208731		0 NP	61	0	0	0	
6	MAN	6,62	FS	2	1,042	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	2023	187	0,09243697		0 NP	61	0	0	0	
6	CYS	6,62	FS	2	1,041	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	2174,7	244	0,11219938		0 NP	61	0	0	0	
7	MAS	9,13	FS	3	1,019	0	0	0	0	1	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	459,4	188	0,40922943		1 BP	30	0	0	0	
7	MAN	9,13	FS	3	1,017	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	397,5	153	0,38490566		0 BP	30	0	0	0	
7	CYS	9,13	FS	3	1,025	0	0	0	1	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	513,6	307	0,59774143		0 P	30	0	0	0	
8	MAS	3,61	M	2	1,047	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,2	4418,2	464	0,10502014		0 NP	105	1	0	1	
8	MAN	3,61	M	2	1,047	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,7	4430,1	451	0,10180357		0 NP	105	0	0	0	
8	CYS	3,61	M	2	1,045	0	0	0	0	0	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,1	4128,9	492	0,11916007		0 NP	105	0	0	0	
9	MAS	11,58	FS	1	1,013	0	0	0	0	0	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,6	312,4	2823	9,03649168		1 P	120	0	0	0	
9	MAN	11,58	FS	1	1,013	0	0	0	0	0	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,4	340,9	2930	8,59489586		0 P	120	0	0	0	
9	CYS	11,58	FS	1	1,013	0	1	0	0	0	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,7	345,5	2934	8,49204052		0 P	120	0	0	0	
10	MAS	4,02	F	2	1,035	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	2628,7	123	0,04679119		0 NP	60	0	0	0	
10	MAN	4,02	F	2	1,033	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	2373,3	118	0,0497198		0 NP	60	0	0	0	
10	CYS	4,02	F	2	1,034	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	2639,8	121	0,04583681		0 NP	60	0	0	0	

n° clovis	n°identificat	Motif de consultation	motif analyse urine	antécédents urinaires	Hypothèses diagnostiques
16-951	1	dysorexie, abattement, hyperthermie depuis 1mois			
14-6313	2	Exploration PUPD et protéinurie	Exploration protéinurie	RPCU =5,8 le 15/02/16	Glomérulopathie secondaire ou primaire
16-458	3	Maladie inflammatoire intestinale. Diarrhée, vomissement avec sang	volontaire	non	
12-6621*	4	Amaigrissement, vomissement depuis 2 mois	suspicion glomérulonéphrite	non	Glomérulonéphrite
16-1466	5	Amaigrissement, abattement, diarrhée évoluant depuis 2 semaines. Perte de poids chronique depuis 2mois +PuPD (chiot de fratrie euthanasié à ses 3mois pour IR)	exploration hypothèse MRC (+volontariat)	Non : pas de protéinurie malgré une bandelette +	MRC congénitale, insuffisance hépatique, hypercorticisme, diabète sucré, hypercalcémie, diabète insipide
12-4864*	6	Volontaire	Volontaire	non	
16-1309	7	Crise convulsive	volontaire		insulinome
16-670	8	Vomissements diarrhée amaigrissement chronique	Volontaire	protéinurie d'origine rénale (+/-post-rénale non confirmée par RPCU)	Non exploré
15-5970	9	Suivi entéropathie exsudative et contrôle protéinurie diagnostiquée en décembre 2015	Exploration protéinurie (électrophorèse des protéines, dosage SDMA)	Protéinurie diagnostiquée décembre 2015 + protéinurie d'origine rénale le 08/03/16	
12-6357*	10	Volontaire	Volontaire	Non	

Annexe 5 : Motifs de consultation ou diagnostic de l'affection dont souffraient les chiens inclus dans l'étude.

Motif de consultation / affections dont souffrent les chiens inclus dans l'étude	Nombre de chien
AHMI	1
Troubles digestifs chroniques	5
Insulinome	1
Cushing / forte suspicion	1 + 1
Pathologie pulmonaire et/ou cardiaque	1
Pancréatite	1
Pyothorax	1
Chirurgies orthopédiques	3
Chirurgie des tissus mous	17
Plaies chroniques	4
Hyperthermie d'origine indéterminée	1
Douleur ostéo-articulaire	1
Tumeur cavités nasales / aspergillose	2
Lymphome T	1
Shunt porto-systémique congénital	1
Epilepsie essentielle	1
Arthrite septique	1
Intoxication AINS, atteinte tubulaire	1
Envenimation hyménoptères	1
Fecalome	1
Sialadénite	1
Masse lombaire	1

Annexe 6 : Races représentées au sein de notre étude.

Colley	1
Cocker	4
Golden	1
Croisé	12
Dogue allemand	1
Boxer	8
York	1
Epagneul breton	2
CKC	1
Labrador	4
Cocker	1
Griffon	2
Malinois	2
Sharpei	1
Teckel	1
Whippet	1
Border collie	2
Berger blanc suisse	2
Beauceron	1
Bouledogue français / anglais	2 / 1
Cane corso	1
Bouvier bernois	1
Beagle	1
Braque français / Allemand / weimar	3
Cairn terrier	1
Lhasa apso	1
Fox terrier	1
Border terrier	1
Staffy	1

Annexe 7 : Valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sur les analytes de la bandelette urinaire

Paramètre	Valeur de p
Densité urinaire	0,79
Glucose	0,99
Bilirubine	0,82
Corps cétoniques	absent
Sang	0,063
pH	0,58
Protéines	0,97
Urobiline	0,55
Nitrite	0,82
Leucocytes	0,04

Annexe 8 : Valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sur le culot urinaire

Paramètre	Valeur de p
Moyenne des cristaux	0,66
Moyenne des globules rouges	0,09 / 0,0296 Si les 4 hémorragiques sont retirés
Moyenne des leucocytes	0,98 / 0,18 Si les 4 hémorragiques sont retirés
Moyenne des cylindres	0,97
Moyenne des bactéries	0,6
Moyenne des spermatozoïdes	0,91
Moyenne des cellules épithéliales	0,057

Annexe 9 : Valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sur la présence d'hématurie, de pyurie, de desquamation microscopique ou de classification du sédiment comme étant actif

Test considéré (qualitatifs)	Valeur de p
ITU	0,23
Sédiment actif	0,03
Globules blancs	0,0074
Globules rouges	0,07
Cellules épithéliales	0,36

Annexe 10 : Valeurs de p évaluant l'influence du mode de collecte sur la créatininurie, la protéinurie et le RPCU.

Paramètre	Valeur de p
Créatininurie	0,95
Protéinurie	0,99
RPCU	0,99

Étude visant à préciser l'influence du mode de collecte des urines sur leur analyse physico-chimique et cytologique chez le chien.

L'analyse d'urine est un examen complémentaire indispensable en pratique vétérinaire. De nombreux facteurs sont à prendre en compte pour son interprétation. Notre travail étudie dans sa partie bibliographique l'influence de divers facteurs pré-analytiques sur l'analyse physico-chimique et cytologique des urines. Dans sa partie expérimentale, il étudie l'influence du mode de collecte sur celle-ci. Nous étudions trois modes de collecte : miction spontanée simple, miction spontanée après nettoyage de la sphère uro-génitale ou cystocentèse, et cherchons à démontrer qu'après nettoyage, la miction est un mode de collecte raisonnablement utilisable pour ces analyses. Notre étude a montré que la miction spontanée simple entraînait une augmentation des leucocytes sur la bandelette, des cellules épithéliales dans le culot, ou encore une augmentation du risque d'obtenir une pyurie ou un sédiment actif par rapport aux deux autres modes. Aucune différence significative n'est notée entre cystocentèse et miction après nettoyage. En cytologie, la cystocentèse est responsable d'une hématurie plus importante. Aucune différence significative n'est notée entre les trois modes concernant le rapport protéine sur créatinine urinaire. La miction spontanée après nettoyage est donc raisonnablement utilisable pour l'analyse physico-chimique et cytologique des urines.

Mots clés : Analyse d'urine, facteurs pré-analytiques, mode de collecte, cystocentèse, miction spontanée, miction spontanée après nettoyage, chien

Prospective study on the influence of the method of urine collection on the visual, biochemical and cytological urinalysis in dogs.

Urinalysis is an essential procedure in veterinary medicine. Many factors have to be taken into account for its interpretation. Our study focuses on the influence of various pre-analytical factors on visual, biochemical and cytological urinalysis. The experimental part of our work studies the influence of the method of urine collection. We compare three ways of gathering : simple free catch, free catch after superficial urogenital sphere cleaning, and cystocentesis, in order to demonstrate that free catch is a reliable method of collection. Our work showed that simple free catch leads to a more positive reaction of the leukocyte reagent pad of the urinary dipstick, an increase number of epithelial cells in the urinary sediment, and a higher risk to be associated with pyuria or to have an active sediment with regards to the other two methods. When it comes to cytology, cystocentesis is responsible for a higher number of red blood cells. Urine protein-to-creatinine ratio is not affected by the method of urine collection. Free catch after superficial urogenital sphere cleaning seems thus useful for the visual, biochemical and cytological urinalysis

Key words : urinalysis, pre-analytical factors, method of collection, cystocentesis, free catch, free catch after cleaning, dog

