

Université de Montréal

**Étude de la composition de la bile chez le chat en santé  
et le chat atteint de cholangite**

Par

**Romain Huvé**

Département de sciences cliniques  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire en  
vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences*  
(M.Sc.) en sciences vétérinaires, option sciences cliniques

Août 2019

© Romain Huvé, 2019

Université de Montréal  
Département de sciences cliniques, Faculté de médecine vétérinaire

*Ce mémoire intitulé*

**Étude de la composition de la bile chez le chat en santé  
et le chat atteint de cholangite**

*Présenté par*

**Romain Huvé**

*A été évalué par un jury composé  
des personnes suivantes*

**Pierre Hélie**

Président-rapporteur

**Marie-Claude Bélanger**

Directrice de recherche

**Elizabeth O'Toole**

Codirectrice

**Claire Grosset**

Membre du jury

## Résumé

Les maladies hépatobiliaires sont fréquentes chez le chat. Il existe 3 types de cholangites mais seule la cholangite neutrophilique requiert un traitement antibiotique. Des antibiotiques sont parfois prescrits à tort notamment dans l'attente du résultat d'une culture de bile ou de foie, ce qui pose problème dans le contexte d'antibiorésistance actuel.

La composition de la bile est méconnue tant chez les chats sains que chez les chats atteints de maladies hépatobiliaires.

Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer plusieurs paramètres dans la bile de chats sains et d'investiguer l'utilité de ces paramètres comme marqueurs prédictifs de cholangite bactérienne.

Les chats ont été recrutés prospectivement et répartis en 3 groupes : 21 chats sains (groupe 1) et 14 chats avec maladie hépatobiliaire suspectée : 9 sans infection bactérienne biliaire (groupe 2) et 5 avec infection bactérienne biliaire (groupe 3). Une cholécystocentèse a été réalisée sur chaque chat. La bile a été utilisée pour cytologie, culture et analyses biochimiques incluant le pH, le lactate et le glucose avec des appareils au chevet du patient.

Les valeurs de référence de plusieurs paramètres biliaires chez les chats sains ont été calculées et sont présentées dans cette étude. Le pH ( $p=0,88$ ) et la concentration en lactate ( $p=0,85$ ) n'étaient pas significativement différents entre les 3 groupes. La concentration en sodium ( $\text{Na}^+$ ) était significativement plus élevée dans le groupe 3 comparée au groupe 2 ( $p<0,05$ ). Les concentrations en lactate et glucose ainsi que le pH ne permettaient pas de prédire une infection bactérienne dans la bile.

**Mots-clés :** Composition de la bile, maladie hépatobiliaire, cholangite féline, cholécystocentèse, analyses au chevet du patient

## Abstract

Hepatobiliary disease is common in cats and neutrophilic cholangitis is the most common type. There are 3 types of cholangitis but only neutrophilic cholangitis requires antibiotic treatment. However, antibiotics are sometimes incorrectly prescribed in patients, especially while pending results of a culture of bile or liver tissue, which is problematic in the context of current antimicrobial resistance.

Little is known about bile composition in healthy or diseased cats.

The aims of this study were to evaluate several analytes from the bile of healthy cats and to investigate the usefulness of measuring these variables to predict bacterial cholangitis.

Cats were prospectively enrolled and divided into 3 groups: 21 healthy cats (group 1); and 14 cats with suspected hepatobiliary disease: 9 without bacterial biliary infection (group 2) and 5 with bacterial biliary infection (group 3). Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis was performed in each cat. Bile cytology and culture, as well as analysis of bile including pH, lactate, and glucose levels using several point-of-care devices, were performed.

Reference values for several bile analytes in healthy cats were calculated and are presented in this study. The pH was not significantly different between the 3 groups ( $p=0.88$ ) nor was the lactate concentration ( $p=0.85$ ). Sodium concentration was significantly higher in group 3 compared to group 2 ( $p<0.05$ ). Bile pH, lactate, and glucose levels did not predict the presence of a bacterial infection in the bile.

**Keywords :** Bile composition, hepatobiliary disease, feline cholangitis, cholecystocentesis, point-of-care analyzers

# Table des matières

<b>Résumé</b> .....	<b>3</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>4</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>5</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>8</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>9</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>10</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>12</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>14</b>
<b>PARTIE A : REVUE DE LITTÉRATURE</b> .....	<b>16</b>
<b>Chapitre I : Pathophysiologie de l'appareil hépatobiliaire</b> .....	<b>17</b>
<b>1. Anatomie du système hépatobiliaire</b> .....	<b>17</b>
<b>2. La bile hépatique</b> .....	<b>19</b>
2.1. Composition de la bile hépatique.....	19
2.2. Régulation de la production de bile hépatique .....	20
<b>3. Les canaux biliaires et le sphincter d'Oddi</b> .....	<b>21</b>
3.1. Modification de la bile dans les canaux biliaires .....	21
3.2. Régulation de la motilité des canaux biliaires .....	21
3.3. Régulation de la motilité du sphincter d'Oddi .....	21
<b>4. La vésicule biliaire</b> .....	<b>22</b>
4.1. Composition de la bile dans la vésicule biliaire .....	22
4.2. Modification de la composition de la bile lors du stockage dans la vésicule biliaire .....	22
4.3. Régulation de la composition de la bile dans la vésicule biliaire .....	23
4.4. Régulation de la motilité de la vésicule biliaire .....	24
<b>5. Modification de la composition de la bile lors de cholécystite</b> .....	<b>25</b>
5.1. Modification des échanges d'eau .....	25
5.2. Modification de l'équilibre acido-basique .....	26
5.3. Modification de la composition en électrolytes et en albumine .....	26
<b>Chapitre II – Les cholangites félines</b> .....	<b>27</b>
<b>1. Cholangite neutrophilique</b> .....	<b>27</b>
1.1. Étiologies .....	27
1.2. Signalement.....	28
1.3. Signes cliniques.....	28
1.4. Hématologie.....	29
1.5. Biochimie .....	29
1.6. Imagerie.....	30
1.7. Prélèvement de la bile .....	32
1.8. Examen cytologique et culture de la bile .....	34
1.9. Histologie/nécropsie .....	37
1.10. Traitements.....	38
1.11. Pronostic.....	41
<b>2. Cholangite lymphocytaire</b> .....	<b>41</b>

2.1.	Étiologie .....	41
2.2.	Signalement.....	42
2.3.	Signes cliniques.....	42
2.4.	Bilan sanguin .....	42
2.5.	Imagerie.....	43
2.6.	Cytologie et culture de foie et de bile.....	43
2.7.	Histologie .....	43
2.8.	Traitements.....	44
2.9.	Pronostic.....	46
<b>3.</b>	<b>Cholangite chronique .....</b>	<b>46</b>
3.1.	Étiologies .....	46
3.2.	Cholangite chronique à <i>Platynosomum</i> spp. ....	46
3.3.	Cholangite à Opisthorchiidae.....	49
<b>Chapitre III : Marqueurs d'infection bactérienne .....</b>		<b>50</b>
<b>1.</b>	<b>Les lactates .....</b>	<b>50</b>
1.1.	Métabolisme des lactates .....	50
1.2.	Méthodes de dosage .....	51
<b>2.</b>	<b>Le glucose.....</b>	<b>51</b>
<b>3.</b>	<b>Le pH .....</b>	<b>51</b>
<b>4.</b>	<b>Utilité clinique des marqueurs prédictifs d'infection bactérienne .....</b>	<b>51</b>
<b>Chapitre IV : Calculs des intervalles de référence et comparaison des appareils de mesure .....</b>		<b>54</b>
<b>1.</b>	<b>Calculs des intervalles de référence .....</b>	<b>54</b>
<b>2.</b>	<b>Méthode pour comparer deux appareils de mesure .....</b>	<b>55</b>
2.1.	Estimer l'erreur aléatoire.....	55
2.2.	Analyser les données .....	55
2.3.	Juger l'acceptabilité des données.....	56
<b>PARTIE B : ARTICLE .....</b>		<b>57</b>
<b><i>Bile composition of healthy cats and cats with suspected hepatobiliary disease using point-of-care analyzers: a prospective preliminary study .....</i></b>		<b>57</b>
	Keywords .....	58
	Abstract .....	59
	Introduction .....	59
	Materials and methods .....	60
	Results.....	64
	Discussion .....	66
	Acknowledgements .....	70
	Figures.....	71
	Tables.....	74
	References .....	78
<b>Discussion.....</b>		<b>83</b>
<b>Conclusion .....</b>		<b>93</b>
<b>Bibliographie.....</b>		<b>95</b>
<b>Annexes.....</b>		<b>116</b>

<b>Annexe 1 : Formulaires d'approbation du comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA).....</b>	<b>117</b>
<b>Annexe 2 : Formulaire de consentement éclairé.....</b>	<b>119</b>

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Molécules impliquées dans la régulation de la production de bile hépatique. .....	20
Tableau 2 : molécules impliquées dans le contrôle acido-basique de la bile dans la vésicule biliaire. ....	24
Tableau 3 : molécules impliquées dans le contrôle de la composition électrolytique de la bile dans la vésicule biliaire. ....	24
Table 4: Recommended precision target values for blood gas and electrolyte analytes on blood samples compared to obtained CV for POC analyzers used for bile assessment. .....	74
Table 5: Reference values for bile in healthy cats as performed by the EPOC and Lactate Pro analyzers. ....	75
Table 6: Correlation statistics for the comparison of i-STAT and EPOC analyzers and the Lactate Pro and EPOC analyzers. ....	76
Table 7: Method of comparison study between the i-STAT and the EPOC analyzers. ..	77
Table 8: Reference values for bile in healthy cats as performed by the i-STAT. ....	82
Tableau 9: Composition de la bile dans la vésicule biliaire chez l'humain. ....	86



## Liste des figures

Figure 1: Schéma indiquant l'anatomie du tractus hépatobiliaire. ....	18
Figure 2: Image échographique d'un chat atteint de cholangite neutrophilique avec un canal biliaire dilaté à 4,9 mm. ....	31
Figure 3: Image échographique d'un chat atteint de cholangite neutrophilique avec une paroi de vésicule biliaire épaissie à 3,2mm. ....	32
Figure 4: Image échographique montrant la procédure de cholécystocentèse. ....	33
Figure 5: Cytologie de bile d'un chat avec une cholangite neutrophilique bactérienne. Des neutrophiles ainsi que des bactéries phagocytées sont observés. ....	35
Figure 6: Cytologie de bile d'un chat avec bactibilie sans évidence d'inflammation. ....	36
Figure 7: Bland-Altman percentage difference plots for the evaluation of the clinical interchangeability of the 2 POC analyzers with the clinical limits of agreement determined by subjective preset limits based on whole blood values for bile pH. ....	71
Figure 8: Scatter plots for bile pH (A) and lactate (B) between the 3 groups. These analytes were measured on the EPOC analyzer. ....	72
Figure 9: Scatter plots for bile Na <sup>+</sup> (A), PCO <sub>2</sub> (B) and K <sup>+</sup> (C) between the 3 groups. These analytes were measured on the EPOC analyzer. ....	73
Figure 10: Schéma indiquant le montage permettant une analyse de la bile in vivo. ....	85
Figure 11: Schéma indiquant les échanges au travers de l'épithélium de la vésicule biliaire. ....	89
Figure 12: Schéma indiquant les mécanismes de transport du glucose dans les cholangiocytes. ....	90

## Liste des abréviations

AC: Anhydrase carbonique  
AE: Échangeur chlore-bicarbonate  
ALP: Phosphatase alcaline  
ALT: Alanine aminotransférase  
AQP: Aquaporine  
AST: Aspartate aminotransférase  
ATP: Adénosine triphosphate  
BSEP: Bile salt export pump  
CI: Confidence interval  
FISH: Fluorescence in situ hybridization  
fPLI: Feline pancreatic lipase immunoreactivity  
G: Gaussian  
GGT:  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase  
GIP: Gastric inhibitory peptide  
GLUT: Glucose transporter  
HCl: Acide chlorhydrique  
IBD: « Inflammatory bowel disease » - maladie inflammatoire du tube digestif  
IM: Intra-musculaire  
Max: Maximum  
Min: Minimum  
NG: Non-gaussian  
NHE: Échangeur sodium/hydrogène  
NO: Monoxyde d'azote  
P: Parametric  
PCO<sub>2</sub>: Pression partielle de gaz carbonique  
PCR: Polymerase chain reaction  
POC: Point-of-care analyzer  
PT: Prothrombin time  
PTT: Partial thromboplastin time  
R: Robust

RV: Reference values

SAMe: S-adénosyl méthionine

SD: Standard deviation

SGLT: Sodium-glucose linked transporter

TCR: Récepteurs des lymphocytes T

VIP: Vasoactive intestinal peptide

WCI: Width of the confidence interval

WRI: Width of the reference interval

WSAVA : World Small Animal Veterinary Association

« Je pense que tout est possible  
à qui rêve, ose, travaille et n'abandonne jamais. »  
Xavier Dolan

## Remerciements

À ma directrice de recherche, Dre Marie-Claude Bélanger. Merci pour tes conseils avisés et pour ton accompagnement au cours de cette expérience de recherche. Merci de m'avoir fait confiance pour mener ce projet de maîtrise en parallèle de la résidence. Au plaisir de travailler à nouveau avec toi.

À ma co-directrice Dre Elizabeth O'Toole. Merci de m'avoir accompagné de l'internat jusqu'à aujourd'hui, tu m'as appris à dompter le stress. Merci d'avoir corrigé mon anglais avec patience. Je retiendrai de ce projet ton amour pour les statistiques !

À Dr Pascal Fontaine. Merci d'avoir réalisé toutes les échographies de ce projet avec la précision et la rigueur qui font de toi un imageur hors-pair. On détient grâce à toi le nouveau record du taux d'exclusion de patients ! Merci d'avoir été à mon écoute dans les moments plus difficiles de ma résidence. Ce fut un plaisir de partager ta bonne humeur et tes blagues cyniques.

À Dre Carolyn Gara-Boivin, Mario Guay et toute l'équipe du laboratoire. Merci pour votre implication sur le projet et pour vos idées qui ont fait avancer l'étude.

À mes parents, mon frère, mon conjoint, mes amis, Yoca et Mr Moustache. Merci de m'avoir épaulé durant mes études et d'avoir supporté mon absence. Je vous suis reconnaissant.

À Dre Marie Binvel. Merci d'avoir été présente au cours de mes deux dernières années de résidence. Je me souviendrai toujours des matins où l'on chantait dans le bureau, des moments difficiles où l'on s'est soutenus, des instants râlés, des discussions sans fin, des soirées au café, de ton amour pour le thé matcha ou encore pour la langue française. Tu vas me manquer !

À Dr Pierre Hélie et Dre Claire Grosset. Merci d'avoir accepté d'être membres de mon jury de maîtrise.

## Introduction

Les maladies hépatiques les plus fréquemment rencontrées chez le chat sont : la lipidose hépatique, les cholangites et la nécrose hépatocellulaire (notamment liée à des substances toxiques ou des médicaments). Une étude rétrospective sur 1217 biopsies hépatiques a montré que le diagnostic histologique le plus fréquent chez le chat était la cholangite neutrophilique (20,5%) et que 6,8% des analyses histologiques étaient compatibles avec une cholangite lymphocytaire (1).

Les cholangites sont regroupées en 3 catégories : neutrophilique, lymphocytaire et chronique, cette dernière étant causée par des douves hépatiques (2, 3). Elles peuvent être associées à une pancréatite et/ou une maladie inflammatoire de l'intestin et lorsque les 3 coexistent, le terme « triadite féline » est employé (4). Le diagnostic final de cholangite est le plus souvent histologique ce qui le rend plus difficile ante-mortem (5).

Le traitement de ces 3 formes de cholangites varie et une seule nécessite un traitement antibiotique (6). Toutefois, de nombreux chats reçoivent des antibiotiques avant le diagnostic définitif d'infection biliaire ce qui, dans le contexte d'antibiorésistance actuel, est préjudiciable (7).

Diverses analyses biochimiques des fluides corporels se sont révélées utiles dans la détection d'inflammation septique et en particulier le lactate (8), le glucose et le pH (9).

Les objectifs de cette étude étaient: 1- d'établir les valeurs de référence pour certains paramètres biochimiques de la bile de chats en santé (en particulier glucose, pH et lactate) ; 2- d'investiguer si certains paramètres de l'analyse biochimique permettent de détecter une inflammation bactérienne septique de façon fiable et rapide chez des chats atteints de cholangite.

L'hypothèse de recherche était que la présence de bactéries dans la bile cause une élévation de la concentration en lactate et une diminution du pH et du glucose comparativement à la bile des chats sains.

# **PARTIE A : REVUE DE LITTÉRATURE**



# Chapitre I : Pathophysiologie de l'appareil hépatobiliaire

## 1. Anatomie du système hépatobiliaire

Le système biliaire du chat se compose de la vésicule biliaire, du canal cystique, du canal biliaire commun, des canaux hépatiques, interlobaires et intra-hépatiques, des canaux de Héring et des canalicules biliaires (Figure 1) (10).

Les hépatocytes ont une membrane basolatérale (membrane sinusoidale contenant des microvillosités) et une membrane apicale polarisée (membrane canaliculaire) qui contient les transporteurs impliqués dans la synthèse de la bile. La membrane basolatérale jouxte l'espace de Disse qui contient l'ultrafiltrat des sinusoides veineux portes. Les canalicules hépatiques sont le site primaire de synthèse de la bile (10).

La vésicule biliaire est reliée au canal biliaire commun par le canal cystique. Le canal commun peut fusionner avec le canal pancréatique et former une ampoule avant d'atteindre la papille duodénale ou ces 2 canaux aboutissent de façon distincte dans le duodénum (11). Ces canaux aboutissent à l'ampoule hépato-pancréatique (12).

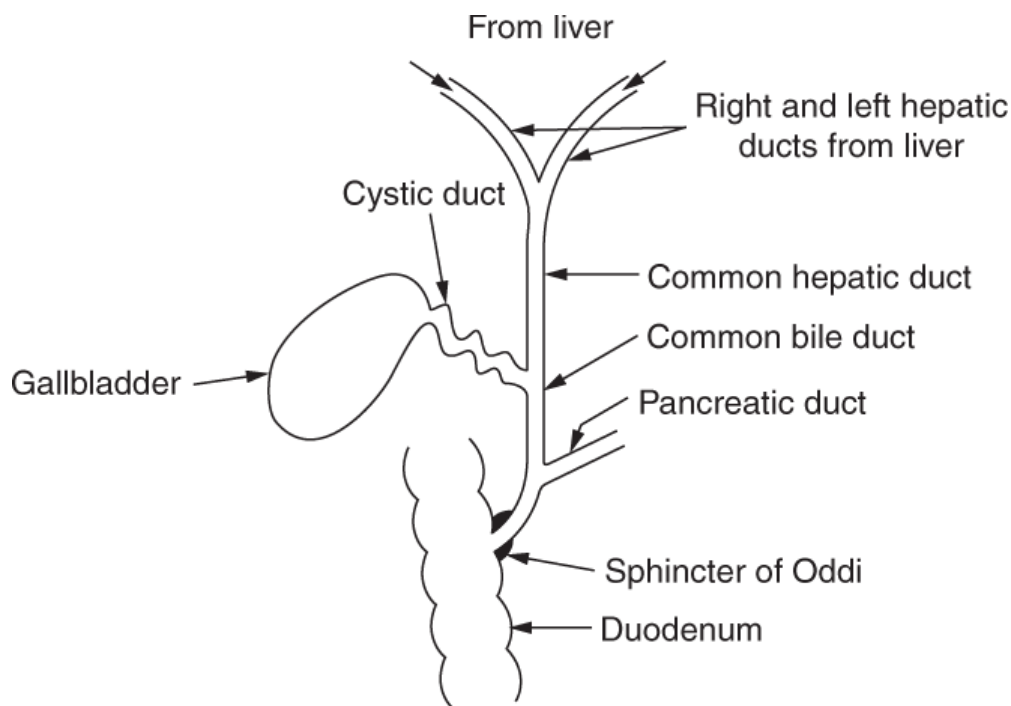
La vésicule biliaire a pour rôles principaux le stockage de la bile et la modification de sa composition. Ainsi, la composition de la bile hépatique produite par le foie est distincte de la bile stockée dans la vésicule biliaire (10, 13). Selon les études, le volume médian de la vésicule biliaire s'étend de 2,34 à 2,8 ml chez le chat en santé (14, 15).

La muqueuse de la vésicule biliaire est recouverte de mucus et contient de fines villosités qui permettent des échanges avec le contenu luminal. La paroi de la vésicule biliaire est composée, d'une muqueuse, d'une musculature, de tissus conjonctifs et d'une séreuse. Les glandes à mucus produisent de la mucine qui protège l'épithélium luminal des effets cytolytiques des acides biliaires.

La vésicule biliaire et le canal biliaire commun sont innervés par le nerf vague. L'apport sanguin artériel provient uniquement de l'artère cystique qui est une branche de l'artère

hépatique gauche (10). Le flux sanguin hépatique est régulé par le système nerveux autonome et notamment par le monoxyde d'azote (NO) (16).

Le flux de bile qui entre dans la vésicule biliaire est lent et à basse pression. La pression est exercée par la sécrétion de bile hépatique et par les contractions toniques du sphincter d'Oddi. Ce sphincter permet un flux de bile à sens unique du canal biliaire commun vers le duodénum ce qui limite les infections ascendantes en provenance du tube digestif (10).



Source: Barrett KE: *Gastrointestinal Physiology, Second Edition*:  
www.accessmedicine.com  
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Figure 1: Schéma indiquant l'anatomie du tractus hépatobiliaire.

Republished with permission of McGraw-Hill Education, from *Functional Anatomy of the Liver and Biliary System*, Kim E. Barrett, *Gastrointestinal Physiology*, 2e, 2019; permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc.

## **2. La bile hépatique**

Les fonctions de la bile regroupent entre autres : le transport des acides biliaires et l'élimination des produits lipophiles et des xénobiotiques (10).

### **2.1. Composition de la bile hépatique**

La production de bile hépatique est classée comme dépendante ou indépendante des acides biliaires. Le mécanisme indépendant implique un transport actif de glutathion et une augmentation de la concentration en chlore ( $\text{Cl}^-$ ) et bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) dans les canalicules biliaires. La production dépendante des acides biliaires repose sur le pouvoir osmotique de ces derniers (10, 17, 18).

La synthèse de bile dans les canalicules biliaires est un processus continu d'osmose principalement contrôlé par des transports actifs primaires de composés organiques dissous (comme le glutathion et les acides biliaires) qui sont ensuite suivis passivement par l'eau, les électrolytes et éventuellement d'autres composés comme le glucose ou les acides aminés (10, 19). En parallèle, des vésicules lipidiques se détachent de la membrane apicale des canalicules biliaires pour former des micelles ce qui permet de diminuer l'effet osmotique et cytotoxique du cholestérol et des acides biliaires sur l'épithélium de la vésicule biliaire (10, 20).

#### **2.1.1. Les acides biliaires**

Chez le chat, les acides biliaires sont presque exclusivement conjugués à la taurine (21). Les chats font comme d'autres espèces, une sulfatation du groupe hydroxyle des acides biliaires pour les rendre plus hydrosolubles et donc moins cytotoxiques (22). Les acides biliaires conjugués majeurs chez le chat sont : l'acide taurocholique, l'acide taurochénodeoxycholique et l'acide taurodéoxycholique (23, 24). La nature des acides biliaires excrétés est importante car elle entraîne une modification de la composition en lipides de la bile. En effet, il a été démontré que la bile contenant de l'acide taurocholique est moins riche en cholestérol comparée à la bile contenant de l'acide taurochénodeoxycholique et l'acide taurodéoxycholique (24).

### 2.1.2. Les électrolytes et l'équilibre acido-basique

Le pH médian de la bile hépatique de chat a été mesuré à 8,1, la pCO<sub>2</sub> entre 5,83 et 5,91 kPa (entre 43,7 et 44,3 mmHg); la concentration en HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> entre 102,3 et 103,7 mmol/L et la concentration en calcium à 1,11 mmol/L (25, 26).

La concentration en bicarbonates dans la bile est toujours supérieure à celle du plasma ce qui est en faveur d'un transport actif de cette molécule dans la bile (17). Bien que la présence d'une pompe n'ait pas été mise en évidence chez le chat, l'existence d'un co-transport actif de Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> à la membrane basolatérale des hépatocytes a été démontrée chez le rat et le cobaye. De plus, des échangeurs Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> et HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/HSO<sub>4</sub><sup>-</sup> ont été trouvés dans la membrane des canalicules biliaires chez le rat (27, 28).

La concentration en calcium sécrété dans la bile est équivalente à celle du sérum, y compris lors d'hypercalcémie, qu'elle soit aiguë ou chronique (29). Ceci est compatible avec une diffusion passive du calcium du sérum vers la bile.

## 2.2. Régulation de la production de bile hépatique

Selon les études, la production médiane de bile hépatique chez les chats en santé s'étend de 0,87 ml/h à 2,4 ml/h (14, 15, 30, 31).

La production de la bile est notamment contrôlée par des hormones, des autacoïdes et le système nerveux (Tableau 1). Ni le glucagon, ni la prostaglandine E2 n'influencent le flux de bile hépatique (15, 17, 19, 30, 32-38).

	Production de bile hépatique
Insuline	↑
VIP	↑
Sécrétine	↑
Taurocholate de sodium	↑
HCl dans le duodénum	↑
Stimulation des récepteurs α	↓
Somatostatine	↓

Tableau 1 : Molécules impliquées dans la régulation de la production de bile hépatique.

↑ : augmentation ; ↓ : diminution

### **3. Les canaux biliaires et le sphincter d'Oddi**

#### **3.1. Modification de la bile dans les canaux biliaires**

La concentration en bicarbonate dans la bile et le volume de production de bile augmentent dans les canaux biliaires sous l'influence du VIP et de la sécrétine. L'administration d'acétazolamide, inhibiteur spécifique de l'anhydrase carbonique, antagonise ce mécanisme. Ceci indique que le VIP et la sécrétine exercent leurs actions au moins en partie via l'anhydrase carbonique dans les canaux biliaires. La présence de l'anhydrase carbonique dans les canaux biliaires et dans la vésicule biliaire a été démontrée à l'aide d'une technique d'immunotransfert (17).

Une pompe est responsable de l'excrétion d'acides biliaires dans la membrane des canaux biliaires hépatiques chez le chat (BSEP - Bile Salt Export Pump). Cette pompe est ATP-dépendante (39). L'excrétion d'acides biliaires a été quantifiée dans une étude chez le chat et s'élevait à 14,6 mmol/h en médiane (31).

#### **3.2. Régulation de la motilité des canaux biliaires**

L'adrénaline et la morphine et ses dérivés, entraînent la contraction des muscles lisses entourant les canaux biliaires. Ceci a pour effet de diminuer le flux de bile qui traverse les canaux biliaires (40, 41).

#### **3.3. Régulation de la motilité du sphincter d'Oddi**

La motilité du sphincter d'Oddi repose sur une activité myogénique. Sa contraction peut être spontanée ou provoquée et a pour effet de diminuer le flux biliaire (42-45).

La motiline augmente la force de contraction du sphincter d'Oddi et sa fréquence de contraction (45). De même, le système nerveux sympathique permet une contraction du sphincter via des récepteurs alpha (42-44, 46, 47). Enfin, il a été démontré que la morphine induit une contraction du sphincter d'Oddi mais n'a pas d'action sur la motilité de la vésicule biliaire (31).

A l'inverse, la cholécystokinine entraîne une relaxation du sphincter d'Oddi et une augmentation du flux biliaire (42, 48). Les récepteurs bêta-adrénergiques entraînent une relaxation du sphincter (43, 44). Enfin, une distension des canaux biliaires, de la vésicule biliaire ou du duodénum entraîne une relaxation du sphincter d'Oddi (12, 49, 50). Le NO est un des neurotransmetteurs impliqué dans la relaxation du sphincter d'Oddi (31).

## **4. La vésicule biliaire**

### **4.1. Composition de la bile dans la vésicule biliaire**

Dans la vésicule biliaire du chat à jeun en santé, le pH médian se situe entre 6,61 et 6,70, la  $p\text{CO}_2$  entre 9,39 et 9,47 kPa (70,4 à 71,0 mmHg), la concentration en  $\text{HCO}_3^-$  entre 2,5 et 2,8 mmol/L (25, 26) et la concentration en calcium à 2,73 mmol/L (25).

### **4.2. Modification de la composition de la bile lors du stockage dans la vésicule biliaire**

#### **4.2.1. Modification de la composition en eau**

Lors du passage de la bile dans la vésicule biliaire, des échanges d'eau ont lieu entre le plasma et la bile avec une médiane d'absorption nette de 0,15 ml/h à 0,78 ml/h (13, 17, 26, 30, 51-53).

#### **4.2.2. Modification de la composition acido-basique**

Lorsque la bile est stockée dans la vésicule biliaire, son pH diminue tout comme la concentration en  $\text{HCO}_3^-$  tandis que la  $p\text{CO}_2$  augmente au cours du temps (25, 26, 30, 52). La diminution de concentration en  $\text{HCO}_3^-$  est probablement secondaire à la sécrétion de  $\text{H}^+$  qui neutralise le  $\text{HCO}_3^-$  pour former du  $\text{CO}_2$  lequel diffuse à travers l'épithélium de la vésicule biliaire. La diminution de concentration en  $\text{HCO}_3^-$  a été mesurée en moyenne à 0,006 mmol/h chez le chat (25).

### **4.2.3. Modification de la composition en électrolytes**

Lors du stockage de la bile, il y a une diminution moyenne de la concentration de la bile en  $\text{Na}^+$  (0,156 mmol/h),  $\text{Cl}^-$  (0,167 mmol/h) et  $\text{K}^+$  (0,0063 mmol/h) (30).

## **4.3. Régulation de la composition de la bile dans la vésicule biliaire**

### **4.3.1. Contrôle de la composition en eau**

Les échanges d'eau sont entre autres contrôlés par la sécrétine et le VIP sanguin et l'acide chlorhydrique dans le duodénum. Ces derniers réduisent ou inversent les échanges d'une absorption nette vers une sécrétion nette (13, 17, 26, 30, 51-53).

À l'inverse, la stimulation des nerfs splanchniques augmente l'absorption nette d'eau ce qui concentre les acides biliaires et diminue le flux de bile (19, 25). La somatostatine n'a aucun effet basal sur l'absorption d'eau ni sur la motilité de la vésicule biliaire. Elle peut en revanche inhiber la sécrétion d'eau induite par le VIP et la sécrétine (37).

La cholécystokinine, le glucagon et le GIP (« Gastric inhibitory peptide ») n'ont aucun effet sur les échanges d'eau (17, 32, 54).

### **4.3.2. Contrôle de l'équilibre acido-basique**

Les effets des différentes molécules impliquées dans l'équilibre acido-basique de la bile dans la vésicule biliaire sont résumés dans le tableau 2.

La sécrétion de  $\text{H}^+$  par la vésicule biliaire est augmentée par la stimulation du système nerveux sympathique et peut être bloquée par l'administration d'amiloride dans la vésicule biliaire (26). L'amiloride bloque les pompes  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  ce qui suggère leur présence dans la vésicule biliaire des chats.

L'administration intraveineuse de VIP entraîne une augmentation de la sécrétion de  $\text{HCO}_3^-$  et une diminution de l'absorption de  $\text{Cl}^-$  par la muqueuse de la vésicule biliaire via un échangeur  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  (17, 25, 26, 30). Le VIP entraîne également une diminution de la sécrétion de  $\text{H}^+$  par la muqueuse de la vésicule biliaire (17).

La sécrétine inhibe la réabsorption de  $\text{HCO}_3^-$  et diminue la sécrétion de  $\text{H}^+$ , ce qui conduit à une augmentation du pH (17, 54).

	Sécrétion de $\text{H}^+$	Sécrétion de $\text{HCO}_3^-$
Syst. nerveux sympathique	↑	
Amiloride	↓	
VIP	↓	↑
Sécrétine	↓	↓

Tableau 2 : molécules impliquées dans le contrôle acido-basique de la bile dans la vésicule biliaire.

↑ : augmentation ; ↓ : diminution ; Syst. : système

#### 4.3.3. Contrôle de la composition en électrolytes

Les effets des différentes molécules impliquées dans le contrôle de la composition électrolytique de la bile dans la vésicule biliaire sont résumés dans le tableau 3 (17, 25, 26, 30, 54).

	Sécrétion de $\text{Na}^+$	Sécrétion de $\text{K}^+$	Absorption de $\text{Cl}^-$	Absorption de $\text{Ca}^{2+}$	Absorption de $\text{HCO}_3^-$
VIP	↑	↑	↓	↓	↓
Sécrétine	↓	↓	↓		↓
Stimulation des nerfs splanchniques				↑	↑

Tableau 3 : molécules impliquées dans le contrôle de la composition électrolytique de la bile dans la vésicule biliaire.

↑ : augmentation ; ↓ : diminution

#### 4.4. Régulation de la motilité de la vésicule biliaire

La contraction de la vésicule biliaire est permise par l'action du système nerveux parasympathique, par la cholécystokinine et la motiline (12, 32, 48, 49). La présence d'acide chlorhydrique dans le duodénum entraîne une contraction de la vésicule biliaire notamment via la libération de cholécystokinine (13, 55). La cholécystokinine entraîne une diminution de 22% à 46% du volume de la vésicule biliaire selon les études (32,



55). De plus, il a été démontré que la stimulation du nerf vague facilite l'augmentation du tonus de la vésicule biliaire induite par la cholécystokinine (56). Enfin, la substance P peut entraîner une contraction de la vésicule biliaire (57).

La stimulation des récepteurs bêta-adrénergiques entraîne une relaxation de la vésicule biliaire mais n'a pas d'effet sur sa fonction de concentration de la bile (54). Les muscles lisses de la vésicule biliaire reçoivent une innervation sympathique noradrénergique inhibitrice (58). Enfin, la somatostatine peut inhiber la contraction de la vésicule biliaire induite par la cholécystokinine (37).

La motilité de la vésicule biliaire n'est pas influencée par le GIP, le glucagon ou la sécrétine (30).

## **5. Modification de la composition de la bile lors de cholécystite**

### **5.1. Modification des échanges d'eau**

L'inflammation entraîne une sécrétion nette d'eau (0,43 à 0,48 ml/h en médiane) alors qu'il y a une absorption nette d'eau chez le chat en santé (31, 52, 53, 59-61). Ce phénomène peut être en partie expliqué par une augmentation de la concentration en VIP et en NO dans la vésicule biliaire inflammée (31, 59, 62, 63).

De plus, lors de cholécystite, il y a une augmentation de la concentration en prostaglandine E2. Cette augmentation est notamment liée à la sécrétion de bradykinine dans la bile et à une augmentation de pression dans la vésicule biliaire. L'augmentation de pression dans la vésicule biliaire étire sa paroi ce qui induit la synthèse de prostaglandines (15, 33, 61, 64-68). La prostaglandine E2 diminue l'absorption d'eau dans la vésicule biliaire, entraîne sa contraction et ainsi une cholérèse (15, 33, 64-68). L'action de la prostaglandine est médiée par la stimulation du système nerveux intrinsèque de la vésicule biliaire (69, 70).

Il a été démontré que la cyclooxygénase-2 est impliquée dans les cholécystites du chat et que l'administration d'un bloqueur spécifique de cette enzyme inhibe l'augmentation de la sécrétion d'eau secondaire à l'inflammation (71).

L'administration de l'opéramide ou de morphine inhibe la sécrétion d'eau et la contraction de la vésicule biliaire induites par l'inflammation tandis que la naloxone rétablit ces mécanismes ce qui suggère une implication de récepteurs opioïdes (72-74). De même, l'administration d'un inhibiteur d'enképhalinase a permis de réduire la sécrétion d'eau par la vésicule biliaire (75).

Enfin, bien qu'il y ait une augmentation de pression dans l'arbre biliaire lors de cholécystite, la pression n'a pas d'influence sur le volume de bile produite par le foie (69, 70).

## **5.2. Modification de l'équilibre acido-basique**

Chez le chat en santé, le pH de la bile diminue tandis que la  $p\text{CO}_2$  augmente au cours du temps lorsque la bile est stockée dans la vésicule biliaire. Ces effets ne sont pas observés lors de cholécystite. Ceci est secondaire à une diminution de la sécrétion de  $\text{H}^+$  et une augmentation de la sécrétion de  $\text{HCO}_3^-$  (31, 52, 53, 59-61).

## **5.3. Modification de la composition en électrolytes et en albumine**

Lors de cholécystite induite par implantation de calculs biliaires humains dans la vésicule biliaire de chats, une augmentation de la sécrétion en calcium a été observée (60).

Lors d'induction d'une cholécystite par perfusion de lysophosphatidylcholine (un phosphoglycéride) dans la vésicule biliaire de chats, il a été démontré qu'elle sécrétait activement de l'albumine (76). Le mécanisme pour expliquer cette sécrétion demeure inconnu.

# Chapitre II – Les cholangites félines

## 1. Cholangite neutrophilique

Cette forme de cholangite est la plus fréquemment diagnostiquée parmi les maladies du tractus biliaire félin (77).

### 1.1. Étiologies

La cholangite neutrophilique est associée à une infection bactérienne du tractus biliaire. Ces bactéries peuvent entrer dans le tractus biliaire par migration ascendante depuis le duodénum ou par voie hématogène. Il existe deux formes de cholangite neutrophilique: la forme aiguë et la forme chronique. La forme aiguë semble davantage être secondaire à des bactéries tandis que la forme chronique représente un stade plus avancé de la forme aiguë associée à une infection et/ou une inflammation persistante (2, 78).

Dans une étude portant sur des chats atteints de cholangite, 83% des chats avaient une maladie inflammatoire entérique concomitante, 50% avaient une pancréatite chronique et 17% avaient une triadite (5). Une des théories pour expliquer la triadite est celle du « canal commun » selon laquelle le canal pancréatique et le canal biliaire se rejoignent en un canal commun avant d'entrer dans le duodénum (4, 11, 79). Cette conformation anatomique favoriserait la remontée de bactéries du tube digestif à la fois vers la vésicule biliaire et le pancréas (80). Cette hypothèse est renforcée par le fait que les cultures de bile se révèlent plus souvent positives que les cultures de tissu hépatique (81).

Ceci dit, une étude utilisant l'hybridation *in situ* par fluorescence (« fluorescence *in situ* hybridization » - FISH) a révélé une quantité plus importante de bactéries dans le parenchyme hépatique que dans le canal biliaire suggérant la possibilité de translocation bactérienne dans le système porte (82). Une étude réalisée chez le chat a mis en évidence qu'une infection du tractus biliaire était possible en injectant une quantité variable d'*Escherichia coli* (*E.coli*) dans la veine splénique et que l'infection

était facilitée lors d'obstruction des voies biliaires. La veine porte pourrait donc être une voie d'infection hématogène directe des voies biliaires (83).

L'implication d'*Helicobacter* spp. dans les cholangites/triadites est incertaine. En effet, bien que cette bactérie ait été détectée par amplification en chaîne par polymérase (« polymerase chain reaction » - PCR) dans le foie et la bile de chats atteints de cholangites neutrophilique ou lymphocytaire, elle a aussi été détectée chez des chats avec des maladies hépatiques non inflammatoires et des animaux en santé (84-86).

## **1.2. Signalement**

Selon les études, les chats atteints de cholangite neutrophilique ont un âge médian variant de 9 à 9,5 ans (1, 77, 87). Les chats de race bengales pourraient développer cette forme de cholangite plus précocement (âge médian de 3 ans) (1). Les chats atteints de cholangite neutrophilique aiguë sont plus jeunes que ceux atteints de cholangite neutrophilique chronique (77, 88). Dans une étude, les chats atteints de triadite étaient significativement plus vieux (médiane de 7,5 ans) que ceux atteints de cholangite seule, de maladie inflammatoire intestinale seule, ou d'une combinaison des deux (médiane de 3,5 ans) (5). Aucune prédisposition de sexe ni de race n'a actuellement été mise en évidence (5, 77, 87, 89).

## **1.3. Signes cliniques**

Les signes cliniques sont souvent aigus (moins de 2 semaines) (90). Les plus fréquents sont : léthargie, vomissements, perte de poids, et dysorexie (5, 77, 78, 87, 89). Les vomissements et la dysorexie sont plus fréquents chez les chats atteints de triadite comparé aux chats atteints de cholangite, de maladie inflammatoire entérique, ou des deux combinés (5). A l'examen clinique, les anomalies possibles sont de la fièvre, une déshydratation, un ictère, de la douleur abdominale, ainsi qu'une hépatomégalie (77, 78, 89, 90). La fièvre a été plus fréquemment décrite dans la cholangite neutrophilique chronique : 26% contre 14,3% pour la forme aiguë (77). Une hépatomégalie a été décrite chez 23% des chats atteints de cholangite neutrophilique chronique (77). Du

ptyalisme peut survenir secondairement à des nausées ou à une encéphalopathie hépatique (6).

Bien qu'il existe une distinction histologique entre la forme aiguë et la forme chronique de la cholangite neutrophilique, il existe un chevauchement important entre ces deux formes cliniquement (77).

#### **1.4. Hématologie**

À l'hématologie, les chats peuvent présenter une neutrophilie. Un virage à gauche avec toxogramme peut être observé ainsi qu'une anémie. Plus rarement une neutropénie est observée (5, 77, 78, 81, 88-90).

Dans une étude, une leucocytose était présente chez 2 chats sur 4 avec cholangite neutrophilique aiguë et chez 7 chats sur 23 avec cholangite neutrophilique chronique. Dans cette même étude, une anémie était décrite chez 3 chats sur 7 avec une cholangite neutrophilique aiguë et chez 7 chats sur 24 avec une cholangite neutrophilique chronique. Aucune différence statistique n'a été calculée pour le comptage leucocytaire, la présence d'un virage à gauche ou l'hématocrite entre les cholangites neutrophiliques aiguë ou chronique (77). Une corrélation positive modérée a été mise en évidence entre les cholangites diagnostiquées en histologie, le comptage neutrophilique et la fPLI (« Feline pancreatic lipase immunoreactivity »). Une corrélation modérée négative a été mise en évidence entre les cholangites et l'albuminémie (5).

#### **1.5. Biochimie**

À la biochimie, l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT), l'aspartate aminotransférase (AST), la  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (GGT) et la phosphatase alcaline (ALP) peut être augmentée ou normale (5, 77, 78, 81, 87, 89, 90). Dans une étude rétrospective, les chats suspectés de maladie hépatobiliaire avaient plus fréquemment une élévation de l'activité de l'ALT (75% des chats) comparativement à l'ALP (52% des chats). L'augmentation était en moyenne 5,6 fois la valeur supérieure de l'intervalle de référence pour l'ALT et 2,3 fois pour l'ALP (81). Dans une autre étude, l'activité

médiane de la GGT était significativement plus élevée dans la forme aiguë de la cholangite neutrophilique comparée à la forme chronique dans une autre étude (77).

Une hyperbilirubinémie est parfois mesurée (5, 77, 78, 81, 87, 89, 90) et les chats atteints de cholangite neutrophilique présentent généralement une concentration sérique de bilirubine totale plus élevée que les chats atteints de cholangite lymphocytaire (88, 89).

Aucun des paramètres biochimiques susmentionnés n'est prédictif d'une culture bactérienne de bile positive (81, 91).

Les signes de dysfonction hépatique telles qu'une encéphalopathie hépatique, une coagulopathie, une hypoalbuminémie, une hypoglycémie, une urémie basse ou encore une hypocholestérolémie sont rares. Les acides biliaires pré- et post-prandiaux peuvent être anormalement élevés quoique non-interprétables lors d'hyperbilirubinémie (6, 77, 89).

## **1.6. Imagerie**

Aux radiographies abdominales, une hépatomégalie et des cholélithes peuvent être observés (5, 89).

L'échographie abdominale est considérée comme un examen requis pour le diagnostic des cholangites d'après la « World Small Animal Veterinary Association – WSAVA) (2). La présence de certaines anomalies échographiques peut soutenir le diagnostic de cholangite mais leur absence ne l'exclut pas (87). Entre 36% et 69,2% des chats atteints de cholangite neutrophilique présentent des anomalies à l'échographie (5, 77, 87, 92) telles une distension des canaux biliaires (Figure 2), une distension de la vésicule biliaire, la présence d'un sédiment dans la vésicule biliaire et un foie hyperéchogène (77, 87, 93). La présence de sédiments dans la vésicule biliaire peut toutefois être observée chez le chat sain (85). Un épaissement de la paroi de la vésicule biliaire (> 1mm) n'est pas toujours significatif mais a été associé à des cholécystites bactériennes (Figure 3) (90, 92, 94, 95). D'ailleurs, l'anomalie la plus fréquemment associée à une culture positive est un épaissement de la paroi de la

vésicule biliaire. Lorsque l'échographie est comparée à l'histologie du foie, la sensibilité et la spécificité d'un épaissement de la paroi de la vésicule biliaire sont respectivement de 87% et 90% pour le diagnostic de cholécystite infectieuse ou non (96).

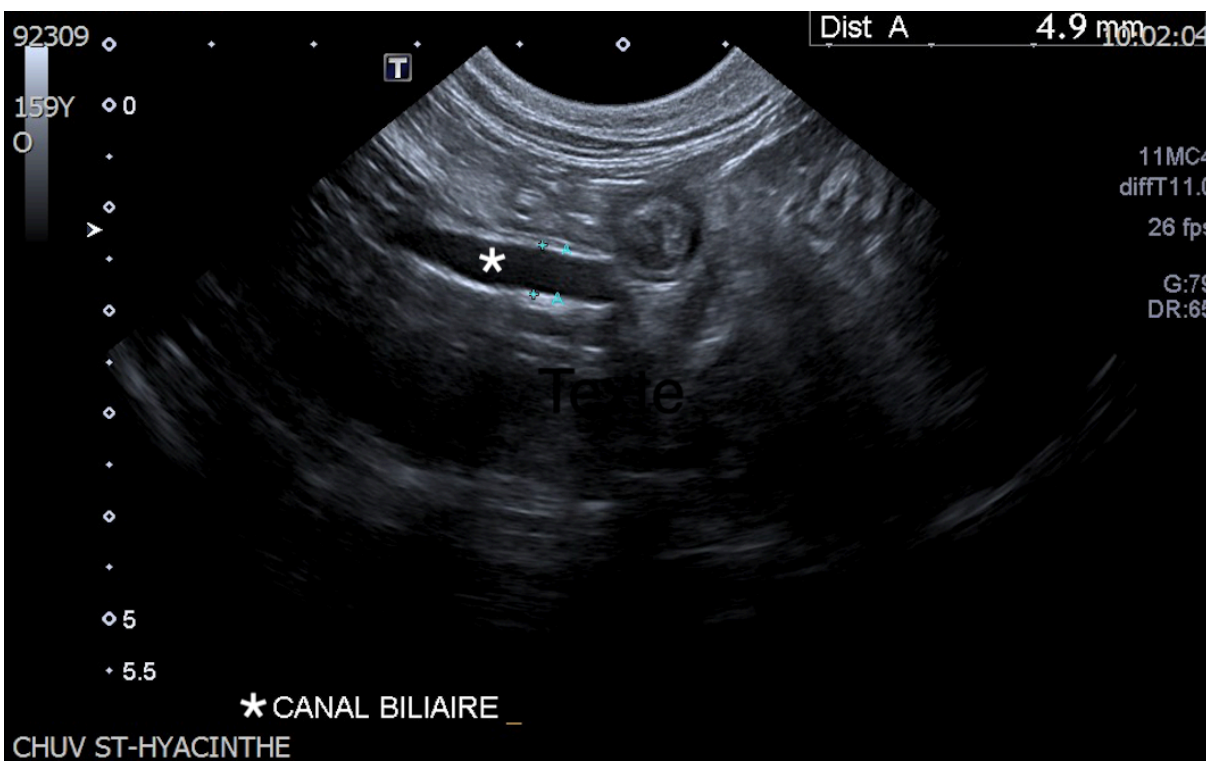


Figure 2: Image échographique d'un chat atteint de cholangite neutrophilique avec un canal biliaire dilaté à 4,9 mm.

Avec la permission du service d'imagerie du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire (CHUV) de la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

Les chats présentant au moins une anomalie échographique de la vésicule biliaire ont 21 fois plus de risque de présenter une culture positive comparativement aux chats avec une échographie normale. La sensibilité et la spécificité de l'échographie pour prédire le résultat de la culture de bile sont respectivement de 96% et 49%. La valeur prédictive négative est quant à elle de 96%; la culture de bile a donc peu de chance d'être positive si la bile est prélevée dans une vésicule biliaire jugée échographiquement normale (92). Les anomalies à l'échographie sont plus fréquentes

dans la forme chronique de la cholangite neutrophilique comparée à la forme aiguë (2). Aucune anomalie ne permet de différencier une cholangite neutrophilique d'une cholangite lymphocytaire à l'échographie (2, 87).

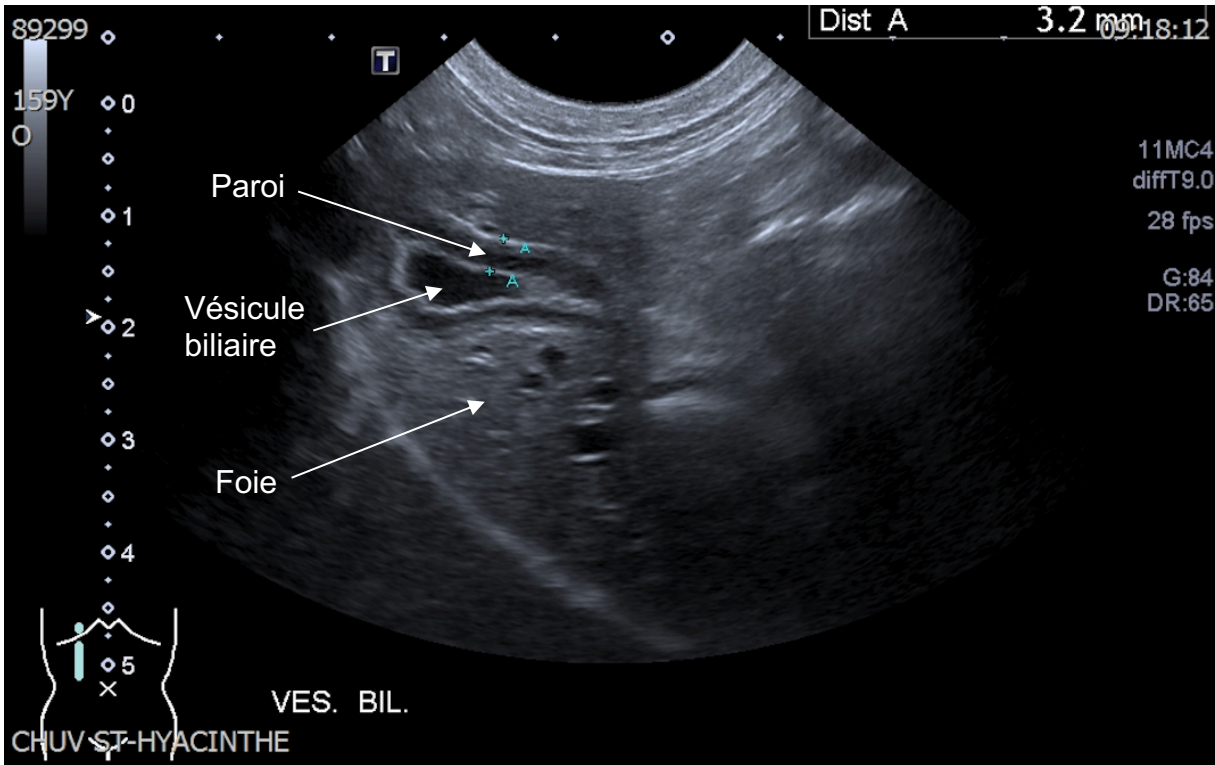


Figure 3: Image échographique d'un chat atteint de cholangite neutrophilique avec une paroi de vésicule biliaire épaissie à 3,2mm.

Avec la permission du service d'imagerie du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire (CHUV) de la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

### 1.7. Prélèvement de la bile

La cholécystocentèse permet le prélèvement de la bile par ponction de la vésicule biliaire à l'aide d'une aiguille fine. Elle peut être réalisée de manière échoguidée (Figure 4), ou encore par laparoscopie ou laparotomie (85, 97). La ponction transcutanée échoguidée permet le retrait d'un volume moyen de bile variant de 1,8 à 2,47 ml chez des chats en santé (85, 98). Les complications associées à la cholécystocentèse



échoguidée chez des chats en santé incluent notamment une diminution d'appétit et une douleur abdominale légère dans les 48h suivants la procédure (85).

Selon une étude récente, le taux de complications de la cholécystocentèse échoguidée est de 17% chez le chat atteint de maladie hépatobiliaire. Le taux de complications mineures (obstruction de l'aiguille, ponction à deux reprises et pneumopéritoine) est de 4%. La complication majeure est la présence d'ascite après la cholécystocentèse. Le taux de complications majeures rapporté est de 13% (11/83) mais parmi les 11 chats étudiés, 6 avaient de l'épanchement avant la cholécystocentèse et tous les chats avaient eu des biopsies ou cytologies du foie ou de la rate au même moment, ce qui aurait pu contribuer à l'épanchement (99). Le taux de complications majeures devient donc difficilement interprétable pour statuer sur le risque associé à la cholécystocentèse seule d'après les données de cette étude.

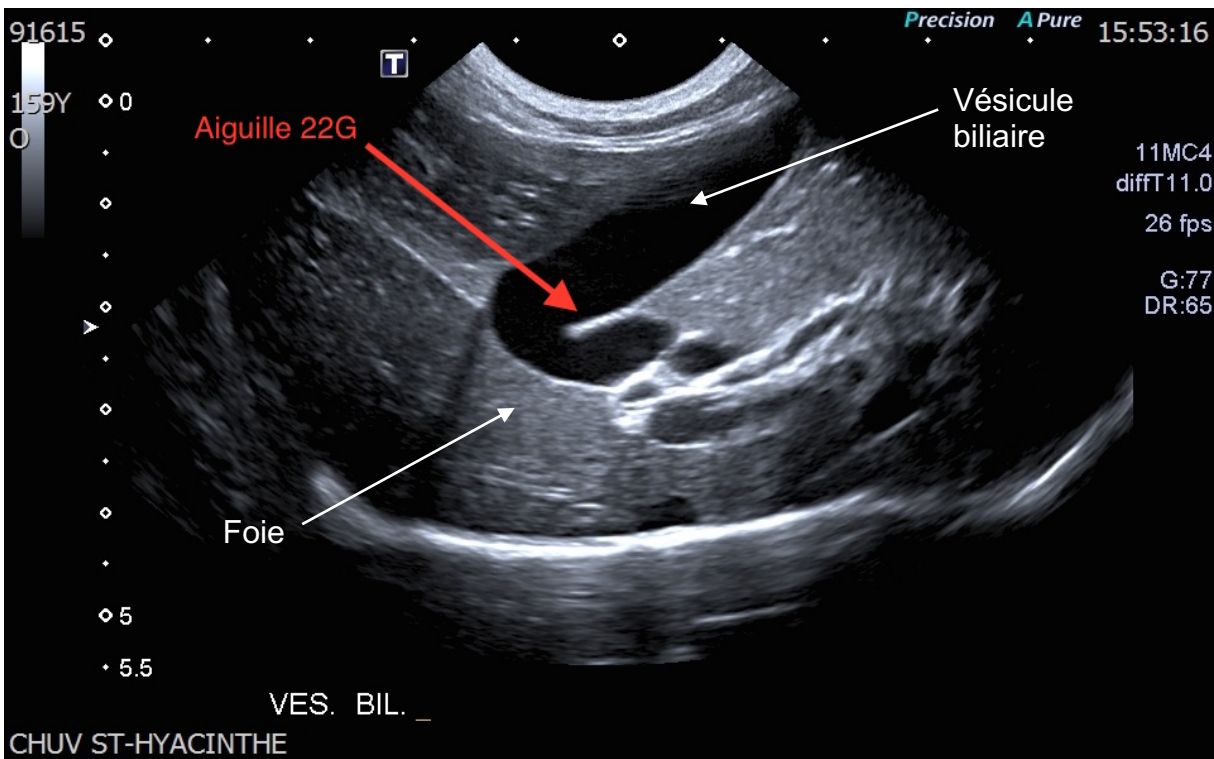


Figure 4: Image échographique montrant la procédure de cholécystocentèse.

Avec la permission du service d'imagerie du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire (CHUV) de la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

Dans une autre étude, le taux de complications était de 2,8% avec pour complications principales une hémorragie péritonéale juste après l'aspiration et une hémorragie dans la lumière de la vésicule biliaire (92). Enfin, Peters et al., (2016) rapportent un taux de complication de 1% avec pour seule complication une fuite de bile au site de cholécystocentèse diagnostiquée par échographie (91). Dans une autre étude, un taux de complication de 3/118 cholécystocentèses réalisées sur 51 chats a été décrit. Ces 3 chats sont mort d'un arrêt cardiorespiratoire durant l'anesthésie mais le lien direct avec la cholécystocentèse n'a pas été établi (97).

### **1.8. Examen cytologique et culture de la bile**

D'après la WSAVA, la cytologie et la culture de la bile sont considérées comme des examens complémentaires nécessaires pour le diagnostic de cholangite neutrophilique (2).

Chez les chats en santé, la bile est stérile (6, 85). Chez le chat atteint de cholangite neutrophilique, la cytologie peut révéler des neutrophiles et des bactéries. Les bactéries peuvent parfois être visualisés dans la bile avec ou sans neutrophiles (Figures 5 et 6).

Dans une étude rétrospective portant sur des chats ayant eu une cytologie de bile, des leucocytes ont été observés dans 15 des 81 échantillons de bile. Des neutrophiles ont été observés sur les 15 et sur 8 d'entre eux, des lymphocytes ont également été mis en évidence. Des bactéries ont été observées chez 18 chats sur 81 dont 10 avaient une inflammation concomitante et 5 avaient des bactéries phagocytées par des neutrophiles (91). La présence de bactéries n'est donc pas toujours associée à une inflammation et réciproquement. Pour 57 chats sur 81, aucune bactérie ni cellule inflammatoire n'ont été observées. La culture de bile s'est avérée positive pour 16 chats sur 77. Il existait une concordance entre la présence de bactéries à la cytologie et une culture positive pour tous les cas sauf un (91). La concordance entre la description de bactéries à la cytologie et une culture positive peut toutefois être inférieure à 50% selon les études de sorte que la culture est toujours recommandée en plus de la cytologie (99).

Selon les études, entre 14 et 35% des cultures de bile provenant de chats suspectés être atteint de cholangite se sont avérées positives (81, 92, 99).

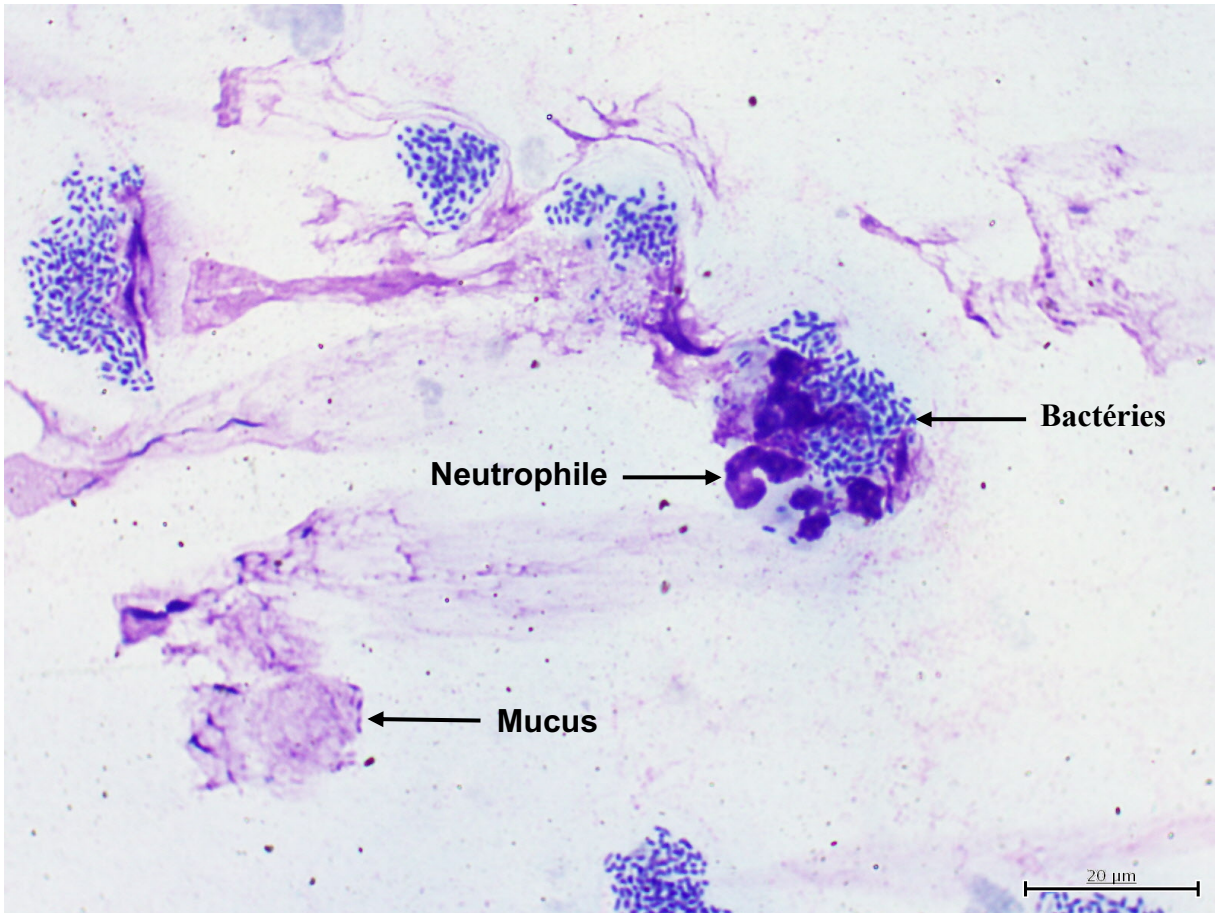


Figure 5: Cytologie de bile d'un chat avec une cholangite neutrophilique bactérienne. Des neutrophiles ainsi que des bactéries phagocytées sont observés.

Avec la permission du service de diagnostic de la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

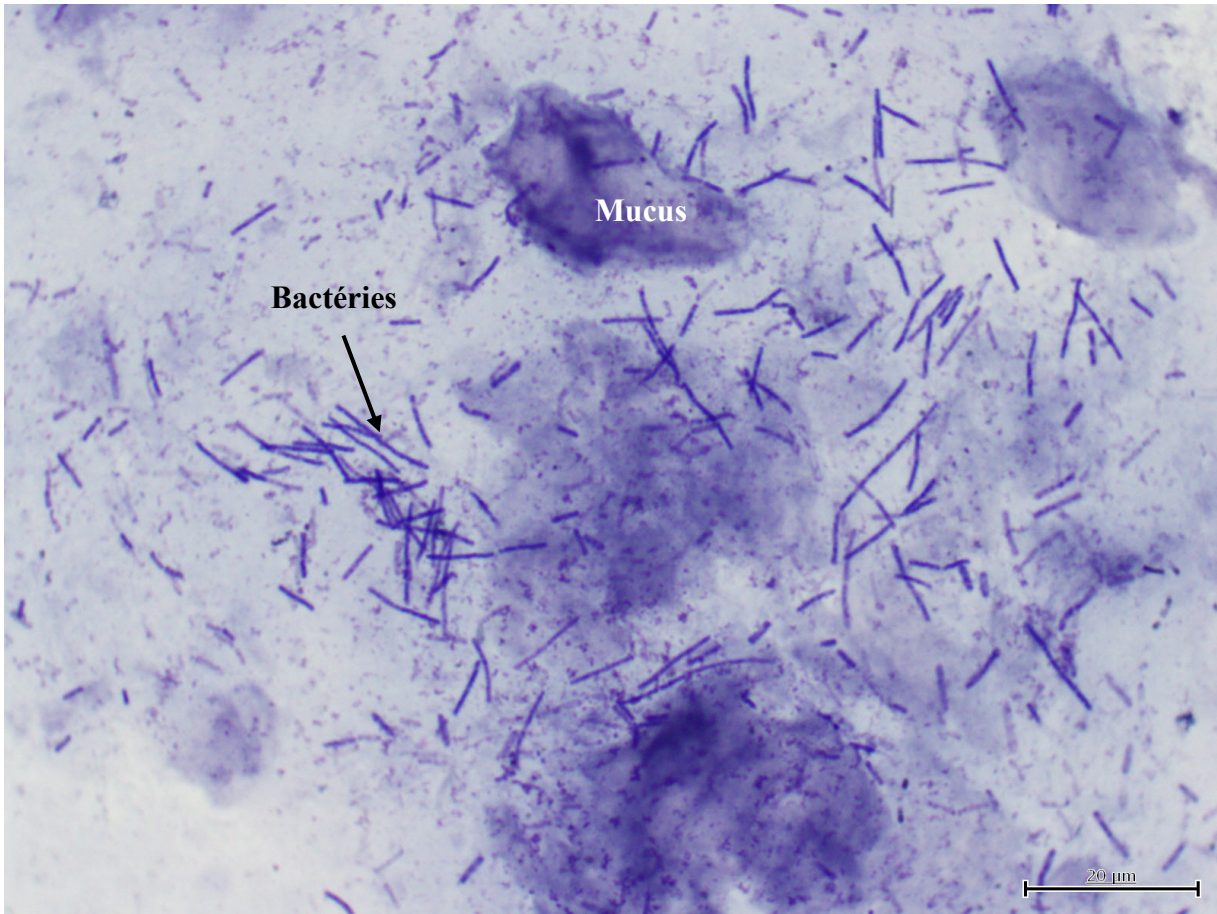


Figure 6: Cytologie de bile d'un chat avec bactibilie sans évidence d'inflammation. Avec la permission du service de diagnostic de la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

La culture de bile permet d'isoler le plus souvent des pathogènes entériques aérobies (81, 90, 91, 99, 100). Les espèces les plus fréquemment isolées dans deux études récentes étaient : *E.coli* et *Enterococcus* spp. (91, 92, 97). Dans 75% des cas, la culture n'identifiait qu'une espèce bactérienne et lorsque 2 espèces ou plus étaient isolées, les 2 bactéries co-infectantes les plus fréquentes étaient *E.coli* et *Enterococcus* spp. (92). Parmi les anaérobies, *Bacteroides* est la bactérie la plus fréquemment isolée. La culture est plus fréquemment positive dans la bile que dans le foie donc même lors de chirurgie pour biopsie hépatique, il est recommandé de prélever un échantillon de bile pour les cultures aérobie et anaérobie (81, 99).

Un cas de cholécystite neutrophilique à *Candida albicans* a récemment été rapporté chez le chat (101).

## **1.9. Histologie/nécropsie**

Macroscopiquement, le foie du chat atteint de cholangite peut apparaître moucheté avec un parenchyme qui peut être plus pâle à jaune clair. Une hépatomégalie est également parfois notée (5).

Selon la WSAVA, l'histologie n'est pas considérée comme un examen nécessaire au diagnostic final de cholangite neutrophilique contrairement à l'échographie, la cytologie et la culture de bile (2). Toutefois, l'histologie a été décrite et recommandée dans plusieurs études.

Histologiquement, la cholangite neutrophilique est caractérisée par la présence de neutrophiles dans la lumière et/ou l'épithélium des canaux biliaires. Au stade aiguë, de l'œdème et des neutrophiles autour des espaces portes peuvent être observés. L'inflammation neutrophilique peut s'étendre au parenchyme hépatique (cholangiohépatite) et dans de rares cas entraîner la formation d'abcès (2, 78, 89, 102). Au stade chronique, une inflammation mixte avec infiltration de neutrophiles, lymphocytes et plasmocytes, parfois associée à de la fibrose et une prolifération des canaux biliaires, peut être observée. Les lésions peuvent varier en sévérité et affecter le foie de façon diffuse dans les cas les plus sévères ou avoir une distribution irrégulière avec un nombre limité d'espaces portes affectés (2, 78, 89, 102).

Dans une étude rétrospective où les chats ont été recrutés par diagnostic histologique de cholangite, 31,8% avaient une lipidose, 65% avaient une pancréatite et 46% avaient une entérite concomitante. Une triadite était présente chez 32% des chats (77). Dans d'autres études, la fréquence de triadite était de 39% (103) et de 3 chats sur 5 (5). L'entérite peut s'avérer plus sévère et plus souvent associée à un infiltrat neutrophilique lorsqu'elle est associée à une cholangite en comparaison à une hépatite portale lymphocytaire ou une absence de maladie hépatique (103).

Dans de rare cas, une hépatite peut être diagnostiquée en association à la cholangite comme dans une étude où 4 chats sur 30 avaient un infiltrat mixte de cellules mononucléaires et de neutrophiles avec ou sans nécrose du parenchyme hépatique (5). Considérant la distribution inégale des lésions tant de cholangite que d'hépatite, il est recommandé de prendre des biopsies dans plusieurs lobes hépatiques (5, 77).

## **1.10. Traitements**

Le traitement consiste en une antibiothérapie idéalement basée sur une culture avec antibiogramme. Si la culture est négative ou si un antibiotique est choisi empiriquement, il doit être choisi selon les bactéries les plus fréquemment isolées dans la bile (7, 90). Le spectre antibiotique doit couvrir les bactéries Gram positives aérobies ce qui peut être accompli avec l'amoxicilline/acide clavulanique, la clindamycine ou encore les tétracyclines. Le spectre doit également couvrir les bactéries Gram négatives aérobies ce qui peut être obtenu avec une fluoroquinolone. Les aminoglycosides peuvent remplacer les fluoroquinolones mais leurs néphrotoxicité et ototoxicité limitent leur utilisation (81, 90). Enfin, le métronidazole peut être ajouté pour traiter des anaérobies telle que *Bacteroides fragilis* (90, 104).

La sensibilité des bactéries peut varier par région mais dans une étude réalisée à l'université du Wisconsin, 45% des souches d'*E.coli* étaient sensibles à l'ampicilline, 67% à l'amoxicilline/acide clavulanique et >80% des bactéries Gram négatives étaient sensibles au ciprofloxacine, à l'amikacine ou à la gentamicine. Toutes les souches d'entérocoques étaient sensibles à la pénicilline et 86% étaient sensibles au ciprofloxacine (81).

Au final, une couverture empirique à spectre large peut être obtenue en associant une fluoroquinolone, une pénicilline et du métronidazole ou en combinant une fluoroquinolone avec l'amoxicilline/acide clavulanique ou la clindamycine (10, 81). En dernier recours, et sur base d'un antibiogramme, la vancomycine peut être prescrite sur des bactéries résistantes aux spectres classiques (105, 106).

Le traitement doit être poursuivi pendant 4 à 6 semaines bien que les signes cliniques s'améliorent en 1 semaine pour la plupart des chats. En cas d'infection sévère ou en

présence de facteurs prédisposant qui ne peuvent pas être corrigés (par exemple une immunosuppression), un traitement de 8 semaines a été recommandé (90). Une autre auteure recommande un traitement de 8 à 12 semaines ou jusqu'à normalisation de l'activité des enzymes hépatiques. Dans le contexte où l'activité des enzymes demeurerait élevée, une échographie, une cytologie de bile et des biopsies hépatiques de suivi pourraient être indiquées (10).

L'administration de corticoïdes est considérée dans les cholangites neutrophiliques lorsque les biopsies contiennent relativement peu de neutrophiles et une prédominance de lymphocytes et de plasmocytes mais aussi, si la réponse à une antibiothérapie adéquate est mauvaise ou incomplète. Certains chats s'amélioreront cliniquement grâce aux corticostéroïdes mais il est difficile de savoir si cette évolution est reliée directement à une amélioration de la maladie hépatique ou alors à une amélioration des maladies concomitantes comme la maladie inflammatoire de l'intestin (80).

Les chats atteints de cholangite neutrophilique sont souvent malades de façon aiguë et peuvent avoir besoin de soins intensifs. Une correction des désordres hydriques et électrolytiques (notamment l'hypokaliémie et l'hypophosphatémie) est nécessaire par administration d'une fluidothérapie adaptée aux besoins du patient. Si les tests de coagulation sont anormaux, l'administration de vitamine K<sub>1</sub> est recommandée avant biopsies puisqu'en cas de cholestase l'absorption de cette vitamine liposoluble est compromise (4, 88, 107).

La réalimentation des chats est essentielle car elle aide à la guérison et limite le risque d'une lipidose hépatique. Une alimentation entérale spontanée ne peut pas être essayée plus de 12 à 24h. Un stimulant d'appétit comme la mirtazapine peut être administré durant cette période (80, 108). Après un délai de 24h, un tube de réalimentation nasogastrique ou œsophagien doit être placé afin de nourrir l'animal (80). Une nourriture riche en calories et en protéines est conseillée. Les protéines sont un nutriment indispensable pour la régénération du tissu hépatique et ne doivent pas être restreintes, sauf en cas d'encéphalopathie hépatique (10, 80). Lors d'encéphalopathie hépatique, le traitement consiste en l'administration de lactulose avec ou sans ajout

d'antibiotiques (néomycine, métronidazole) et avec l'administration d'une nourriture plus restreinte en protéines (109).

La gestion de la douleur repose sur l'administration de buprénorphine, hydromorphone, mépéridine ou butorphanol. Pour une analgésie à long terme, l'utilisation d'un « patch » de fentanyl est possible (80). L'impact des opiacés sur le flux biliaire des chats atteints de cholangite demeure inconnu.

Les nausées/vomissements peuvent être gérés par l'administration d'antiémétiques comme le maropitant. Le métabolisme du maropitant est hépatique donc une réduction de la dose est indiquée en cas de dysfonction hépatique (110, 111). Parmi les alternatives possibles au maropitant se trouvent les antagonistes des récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>3</sub> (ondansetron ou dolasetron). Les antagonistes des récepteurs dopaminergique (tel que le métoclopramide) peuvent augmenter la motilité du système gastrointestinal supérieur mais leur action antiémétique centrale est questionnable chez les chats puisqu'ils ont peu voire pas de récepteurs à la dopamine dans la « chemoreceptor trigger zone ou CTZ » (80, 111, 112).

Une chirurgie thérapeutique est rarement indiquée mais peut être nécessaire lors de rupture de la vésicule biliaire, pour retrait de cholélithes ou pour décompression du canal biliaire en cas d'obstruction. La cholécystectomie est nécessaire lors de rupture de vésicule biliaire. Parfois la bile devient une boue épaisse qui peut obstruer le canal biliaire ce qui nécessite la levée de l'obstruction par un flush du système biliaire extra-hépatique (10, 80, 93, 104).

Lorsque les chats sont également atteints de maladie inflammatoire chronique de l'intestin ou de pancréatite, d'autres thérapies peuvent s'avérer nécessaires comme une supplémentation en cobalamine et une nourriture hypoallergénique (4, 80).

L'acide ursodéoxycholique peut être bénéfique pour les chats atteints de cholangite. Il agit en diminuant les lésions cellulaires associées à la rétention d'acides biliaires toxiques, en améliorant l'excrétion des acides biliaires, en augmentant le flux biliaire (cholérèse), en diminuant les lésions mitochondriales, et il possède des propriétés antifibrotique et immunomodulatrice. Il a peu d'effets secondaires et le plus fréquent



étant une légère diarrhée. La contre-indication principale est une obstruction avérée du canal biliaire (80, 88, 90, 113, 114).

La vitamine E et le S-adénosyl méthionine (S-AMe) peuvent être prescrits pour leurs propriétés anti-oxydantes. Le silymarin peut être utilisé pour ses propriétés hépatoprotectrices (115, 116).

### **1.11. Pronostic**

Dans une étude, les chats morts des suites d'une cholangite neutrophilique étaient au nombre de : 3 sur 7 pour la forme aiguë et de 11 sur 33 pour la forme chronique (77).

Dans une autre étude, sur 15 chats atteints de cholangite neutrophilique, la médiane de survie était de 29,3 mois. Sept chats ont vécu moins de 1 an après les biopsies hépatiques, 6 ont survécu entre 1 et 5 ans et 2 ont survécu plus de 5 ans. Parmi les 7 chats ayant vécu moins de 1 an, 5 avaient des maladies concomitantes (89). Dans une autre publication, 47% ont vécu moins de 1 an, 40% ont survécu entre 1 et 5 ans et 13% ont survécu plus de 5 ans (88).

## **2. Cholangite lymphocytaire**

La cholangite lymphocytaire est une maladie chronique à progression lente (2).

### **2.1. Étiologie**

La cholangite lymphocytaire est suspectée d'être une maladie à médiation immunitaire primaire ou secondaire à une infection bactérienne persistante. Toutefois, l'association entre la cholangite lymphocytaire et l'infection n'est pas établie (77, 86, 117-120) et l'utilisation du FISH n'a pas permis de mettre en évidence un plus grand nombre d'eubactéries dans la bile de chats sains comparée à la bile de chats atteints de cholangite lymphocytaire (117).

Les arguments en faveur d'un processus à médiation immunitaire sont la prédominance de lymphocytes T infiltrant l'épithélium des canaux biliaires et le parenchyme hépatique péri-portal, la présence d'agrégats de lymphocytes B dans les

espaces portes et l'expression de complexe d'histocompatibilité majeur de classe II dans la membrane et le cytoplasme de l'épithélium des canaux biliaires (118).

L'implication d'*Helicobacter* spp. dans cette forme de cholangite est controversée (117, 121). Le FIV et le FeLV ne semblent pas prédisposer aux différentes formes de cholangites (88, 122, 123).

## **2.2. Signalement**

Les chats atteints de cholangite lymphocytaire sont souvent plus âgés que ceux atteints de cholangite neutrophilique mais cette maladie peut se déclarer à tous âges. L'âge médian au diagnostic va de 11 à 12,3 ans mais avec un intervalle large de 6 mois à 21 ans qui se superpose donc à l'intervalle d'âge des chats affectés par les cholangites neutrophiliques (4 mois à 18,5 ans) (1, 87, 103, 117, 118, 122-124). Il n'y a pas de prédisposition de sexe ni de race dans la majorité des études (1, 87, 103, 117, 118, 123, 124) mais les chats des forêts norvégiennes et les mâles étaient surreprésentés dans une étude (122) de même que les persans dans une autre étude (123).

## **2.3. Signes cliniques**

Au début de la maladie, aucun signe clinique n'est observé (117, 123). Ensuite, l'anorexie et la perte de poids sont les signes cliniques les plus fréquents comme pour les cholangites neutrophiliques mais ils sont souvent intermittents et moins sévères. La fièvre, les vomissements et la léthargie sont moins fréquents que dans les cholangites neutrophiliques (88, 103, 119, 120, 122, 123). Dans une étude, l'ascite était le signe clinique le plus rapporté (123). Comme pour les cholangites neutrophiliques, une encéphalopathie hépatique peut survenir avec la cholangite lymphocytaire (123).

## **2.4. Bilan sanguin**

Une leucocytose peut être observée mais moins fréquemment que pour la cholangite neutrophilique (79, 87). Une poïkilocytose peut également être observée (88). Dans une série de cas, parmi les chats avec une cholangite lymphocytaire, une leucocytose était présente chez 2 chats sur 3 et une anémie était présente chez 1 chat sur 3 (77).

La cholangite lymphocytaire peut entraîner une augmentation de l'activité de l'ALP, de l'ALT, une hyperbilirubinémie totale, une augmentation des acides biliaires et une hypergammaglobulinémie (119, 120, 122, 123). Dans la série de cas mentionnée précédemment, aucun chat sur les 3 atteints de cholangite lymphocytaire n'avait d'augmentation de l'activité de l'ALT ou de la GGT mais 2 chats avaient une augmentation de l'activité de l'ALP et 1 avait une hyperbilirubinémie totale (77). Dans une autre étude, l'activité de l'ALT était plus élevée dans les cholangites neutrophiliques comparées aux cholangites lymphocytaires (88).

Chez les chats présentant de l'ascite, l'analyse du liquide révèle un liquide riche en protéines (123).

Lorsque les anticorps anti-nucléaires ont été mesurés, un seul est revenu faiblement positif sur les 4 chats testés (123). Des études sur un plus grand nombre de chats seraient pertinentes pour vérifier l'utilité clinique de ce test.

## **2.5. Imagerie**

Les anomalies échographiques sont plus rares dans la cholangite lymphocytaire. Lorsqu'il y a des anomalies, elles sont comparables à celle décrites dans les cholangites neutrophiliques. Les chats atteints de cholangite lymphocytaire ont moins souvent des changements pancréatiques concomitants (87, 103, 118).

## **2.6. Cytologie et culture de foie et de bile**

L'échographie abdominale, la cytologie et la culture de la bile peuvent être réalisées pour investiguer les autres formes de cholangite mais le diagnostic de la cholangite lymphocytaire est histologique (2).

## **2.7. Histologie**

À l'histologie, la cholangite lymphocytaire est caractérisée par: la présence de lymphocytes qui ciblent les canaux biliaires, une ductopénie, de la fibrose portale, une infiltration de lymphocytes B autour des espaces portes et des lipogranulomes portes. Des lymphocytes concentrés autour des canaux biliaires ou présents dans l'épithélium

biliaire peuvent être observés mais ne sont pas spécifiques de cette maladie. Des plasmocytes et des éosinophiles peuvent être également présents (2, 102, 117-120, 123, 125, 126).

Dans une étude, 25 chats sur 30 ont eu un diagnostic de cholangite lymphocytaire à l'histologie. Vingt chats avaient également une maladie inflammatoire du tube digestif (IBD) et 5 avaient une triadite (5).

Il est parfois difficile de distinguer une cholangite lymphocytaire et un lymphome à l'histologie car dans les deux cas, les lymphocytes peuvent avoir une prédilection pour les espaces portes (2). Une étude a montré que la présence de lymphocytes ciblant les espaces portes, une diminution du nombre de canaux biliaires, une fibrose péribiliare, des agrégats de lymphocytes B mis en évidence par immunohistochimie au sein des espaces portes, et des lipogranulomes portaux sont des critères histologiques en faveur d'une cholangite lymphocytaire. L'amplification en chaîne par polymérase du gène de réarrangement pour les récepteurs des lymphocytes T (PARR) peut être une aide au diagnostic car 82,9% des chats avec cholangite lymphocytaire ont un TCR polyclonal contre seulement 36,4% des chats avec lymphome hépatique (117).

## **2.8. Traitements**

Le traitement de la cholangite lymphocytaire repose sur l'administration de prednisolone (119, 120, 123). L'administration d'antibiotiques n'est pas indiquée considérant que cette forme de cholangite n'est pas associée à des infections bactériennes (6). Un antibiotique peut être prescrit empiriquement si l'animal est dans un état critique en attendant le résultat des cultures.

La prednisolone est prescrite initialement à une dose de 1 à 2 mg/kg toutes les 24h par voie orale. Aucune différence de survie n'a été observée entre les chats recevant 1mg/kg/jour et ceux recevant 2mg/kg/jour. En revanche, les chats recevant de la prednisolone avaient une médiane de survie plus élevée que ceux recevant de l'acide ursodéoxycholique seul (122). D'un point de vue histologique, l'inflammation diminuait de manière plus marquée chez les chats traités avec de la prednisolone comparé aux

chats traités avec de l'acide ursodéoxycholique. Le nombre de cholangiocytes, de cellules progénitrices, de fibroblastes et la fibrose ne variaient en revanche pas entre les groupes (127).

Une fois les signes cliniques contrôlés, un sevrage progressif de la prednisolone est recommandé sur 4 à 6 semaines. Une diminution de 25% de la dose toutes les 2 semaines jusqu'à atteindre 0,5 mg/kg toutes les 24h est une des façons possibles de réaliser le sevrage. La réponse clinique et les paramètres biochimiques devraient être réévalués avant chaque diminution de dose. Une dose de 0,5 mg/kg une fois aux 2 jours peut ensuite être conservée pour 4 semaines ou à long terme selon le contrôle clinique. Idéalement, des biopsies hépatiques de suivi devraient être réalisées préalablement aux modifications ou à l'arrêt des traitements mais cet objectif est difficilement réalisable en clinique (80).

L'administration de prednisolone à long terme est en général bien tolérée chez le chat mais les signes cliniques secondaires au développement d'un diabète mellitus ou d'une insuffisance cardiaque congestive doivent être surveillés. Le méthotrexate et l'azathioprine ne semblent pas être des immunosuppresseurs efficaces (88). Il n'y a actuellement aucune étude démontrant l'efficacité d'autres immunosuppresseurs comme la cyclosporine ou le mycophénolate mofétil. Il y a néanmoins des rapports de cas utilisant le chlorambucil en association à la prednisolone pour les cas les plus sévères (10).

L'acide ursodéoxycholique ne semble pas être un traitement efficace de la cholangite lymphocytaire chez le chat (122). Toutefois, ce traitement semble efficace chez l'humain (128). D'autres études prospectives sont nécessaires chez le chat avant de conclure sur l'intérêt de ce médicament (115).

Les autres traitements de support décrits pour la cholangite neutrophilique s'appliquent pour la cholangite lymphocytaire.

La réponse au traitement est difficile à évaluer car cette maladie progresse lentement. Une augmentation persistante de l'activité de l'ALT et/ou de la bilirubine totale pourrait suggérer une réponse inadéquate (88).

## **2.9. Pronostic**

Dans une étude, la médiane de survie de 23 chats était de 36,9 mois. Sept chats ont vécu moins de 1 an après les biopsies hépatiques, 10 ont survécu entre 1 et 5 ans et 6 ont survécu plus de 5 ans. Parmi les chats ayant vécu moins de 1 an, tous avaient des maladies concomitantes (89).

Dans une deuxième étude, 30% des chats ont survécu moins d'un an, 44% ont vécu entre 1 et 5 ans, et 26% ont vécu plus de 5 ans (88).

Enfin, dans une autre publication, la médiane de survie était de 795 jours avec 74% des chats qui ont survécu plus d'un an, 56% qui ont vécu plus de 2 ans, et 35% plus de 3 ans (122).

## **3. Cholangite chronique**

### **3.1. Étiologies**

La cholangite chronique est associée à des trématodes de la famille des Dicrocoeliidae (*Platynosomum* spp.) et de la famille des Opisthorchiidae (*Opisthorchis* spp, *Clonorchis* spp, *Metorchis* spp, *Amphimerus* spp.) (2, 6, 129, 130).

### **3.2. Cholangite chronique à *Platynosomum* spp.**

Dans cette forme de cholangite, les chats s'infectent en mangeant des lézards ou des amphibiens contaminés (131).

Les régions endémiques sont les régions tropicales et subtropicales (130). La prévalence de ce parasite varie selon les pays : 26% dans la zone métropolitaine de Cuiabá (centre-ouest du Brésil) (132), 42,6% à Maracanaú (nord-est du Brésil) (133) et 81% sur l'île de St. Kitts (Caraïbes) (134).

La sévérité d'infestation varie d'un animal à l'autre avec un nombre de douves dénombrées allant de 1 à 300 par chat. Il n'y a pas de prédisposition de sexe mais les chats adultes sont plus souvent affectés que les chatons (133, 135). Les chats vivant

en liberté sont plus à risque de développer cette infection comparativement aux chats d'intérieur (136, 137).

La majorité des chats est asymptomatique mais la douve peut rester dans la vésicule biliaire et les canaux biliaires et entraîner une inflammation voire une obstruction (130, 137-139). Des signes cliniques tels que dysorexie, léthargie, perte de poids, vomissement, diarrhée ou ictère peuvent apparaître (138-146). Une hépatomégalie a été décrite (77, 141, 147). L'association entre la sévérité des signes cliniques et la charge parasitaire est controversée (133, 136, 138). La mise en évidence de parasites ne veut pas nécessairement dire qu'ils sont responsables des signes cliniques considérant que la majorité des chats sont asymptomatiques (139).

À l'hématologie, une éosinophilie peut être observée (138, 148). À la biochimie, une augmentation de l'activité de l'ALT et l'AST mais pas de l'ALP a été décrite (135, 138, 141, 146). Ce résultat est compatible avec le fait que les cholangites chroniques entraînent rarement une choléstase (16.7% des cas dans une étude) (135).

Une hypocobalaminémie et une hypo- ou hyperfolatémie ont été décrites avec ces parasites (149).

À l'échographie abdominale, la vésicule biliaire peut apparaître distendue avec une paroi hyperéchogène et un contenu variable (liquide anéchogène ou boue biliaire). Les canaux biliaires peuvent être distendus et tortueux. Une hyperéchogénicité hétérogène avec un foie irrégulier et des vaisseaux sanguins hépatiques dilatés peuvent être observés (136, 137, 146, 150). Enfin, un rapport de cas a décrit un chat présentant des structures kystiques dans le foie compatibles avec une dilatation des canaux biliaires intra-hépatiques. L'aspiration des kystes a révélé la présence d'un transsudat avec un grand nombre de parasites vivants (142).

Une analyse des matières fécales peut permettre la détection d'œufs de douves (130, 151, 152). La technique d'analyse la plus sensible actuellement semble être la technique FLOTAC (151, 153). La sensibilité de l'analyse fécale dépend de l'excrétion d'œufs qui est intermittente, de la charge parasitaire, du nombre d'œufs par gramme de matière fécale, et de la méthode d'analyse (150-152, 154). Des coprologies sérieées

peuvent augmenter la sensibilité de détection des œufs (147, 155). Une cholécystocentèse peut être réalisée pour mettre en évidence les œufs de douves dans la bile par microscopie optique. Une étude a montré que le nombre d'œufs dans la bile était plus élevé que dans les matières fécales et donc que cette analyse peut se révéler utile si des coprologies successives s'avèrent négatives (150).

À la nécropsie, l'animal peut être ictérique. Les canaux biliaires sont distendus et peuvent être observés en surface du foie à cause de l'épaississement de leur paroi. Des douves peuvent être retrouvées dans la vésicule biliaire ou les canaux biliaires (130, 133, 135, 137, 156).

À l'histologie, les changements les plus fréquents sont : une prolifération des canaux biliaires, une fibrose périportale avec parfois des ponts de fibrose, une cholangiectasie et une cholangite périportale avec un infiltrat de lymphocytes, plasmocytes et d'éosinophiles. La charge parasitaire ne semble pas corrélée à la sévérité des lésions histologiques (135, 138, 139, 150, 155-158). La détection d'œufs de parasites dans la bile en microscopie est 1,6 fois plus sensible que la détection de douves adultes à la nécropsie (133). Dans de rares cas, une pancréatite peut être associée à ce type de parasitose (149). Cette affection pourrait également prédisposer au développement de cholangiocarcinome (159).

Le traitement consiste en l'administration de praziquantel mais les posologies décrites sont très variables. Dans un rapport de cas, l'administration de 5,75 mg/kg par voie orale deux fois à 78 jours d'intervalle a permis une guérison complète (160). Dans une autre étude, une dose de 40 mg/kg ou de 75 mg/kg par voie orale était prescrite et les deux ont permis une guérison complète des chats. Toutefois, les auteurs ont observé des vomissements et une perte d'appétit avec une dose de 75 mg/kg raison pour laquelle ils recommandent une mono-dose de 40mg/kg (161). L'administration de 20 mg/kg de praziquantel en IM une fois par jour pour trois jours ou l'administration de deux doses de 5mg/kg IM à quatorze jours d'intervalle n'est pas efficace à 100% (162).



### 3.3. Cholangite à *Opisthorchiidae*

Dans cette forme de cholangite, les chats s'infectent en mangeant du poisson cru contaminé (129, 163, 164). La prévalence d'infection dans les régions endémiques va de 35 à 71,4% (165-167). Il n'y a pas de prédisposition de sexe, d'âge ou de race (166). La plupart des chats sont asymptomatiques sauf lors de charge parasitaire lourde (163, 166, 168).

Aucune anomalie autre qu'une éosinophilie n'a été mise en évidence à l'hématologie. À la biochimie, l'activité de l'ALP, de l'AST et de l'ALT et la bilirubinémie totale peuvent être augmentées (163, 164, 166, 168, 169).

À l'échographie, un épaissement de la paroi de la vésicule biliaire et un foie hyperéchogène peuvent être observés (166). Dans un rapport de cas, l'échographie a mis en évidence une structure kystique anéchogène dans le foie et une distension de la vésicule biliaire et des canaux biliaires intra-hépatique. L'aspiration du kyste a permis de retirer un liquide contenant des œufs d'*Amphimerus* (169).

Comme pour les cholangites à *Platynosomum* spp., les œufs de parasite peuvent être détectés dans les matières fécales par technique de flottation (169).

À l'histologie, une cholangite lymphocytaire et plasmocytaire, une hyperplasie des canaux biliaires avec épaissement et fibrose de leur paroi et une fibrose péricholangiale ont été décrites (168-170). Des dilatations kystiques des canaux biliaires intra-hépatiques avec des douves à l'intérieur peuvent être mises en évidence (169, 171). Un cholangiocarcinome peut se développer secondairement à l'infection (172).

Le traitement consiste en l'administration de praziquantel. Une étude a démontré que pour les infections à *O.viverrini*, une seule dose de 40mg/kg de praziquantel permettait une guérison dans 100% des cas (163). Dans une autre étude, une infection à *A.pseudofelineus* a été traitée avec 3 doses de 40mg/kg de praziquantel IM sur 3 jours consécutifs (169).

# Chapitre III : Marqueurs d'infection bactérienne

## 1. Les lactates

### 1.1. Métabolisme des lactates

Les lactates sont des intermédiaires importants pour la bioénergétique (173). Ils existent sous deux formes : L-lactate ou D-lactate. Chez un animal en santé, plus de 99% des lactates sont présents sous forme de L-lactate qui est produit par la voie de la glycosylase ou par des bactéries commensales du tractus digestif des mammifères (173, 174). Bien que la plupart des tissus peuvent produire ou métaboliser le L-lactate, 50% de la production vient des muscles, du cerveau et du tissu adipeux. Parmi les cellules sanguines, les globules rouges, les leucocytes et les plaquettes sont respectivement responsables de 80%, 13% et 7% de la production de L-lactate. La production de L-lactate est augmentée lors d'une recrudescence du métabolisme oxydatif des neutrophiles et elle peut être multipliée par 6 lors de sepsis (173). L'augmentation de la concentration en lactate pourrait en partie être attribuable à la glycolyse anaérobie des leucocytes et/ou une anoxie tissulaire attribuable à une ischémie. Une mauvaise perfusion sanguine des tissus convertit le métabolisme des carbohydrates de l'aérobie vers l'anaérobie entraînant la production de deux molécules de lactate par molécule de glucose consommée (175-177). Une autre hypothèse pour expliquer l'augmentation de la concentration en lactate est la production de lactate par les bactéries (178-180). Enfin, un défaut de réabsorption des lactates lié à l'hypoperfusion sanguine est possible (181).

Le D-lactate est produit en petite quantité par la voie de la glycosylase chez les mammifères et est le produit de fermentation bactérienne des carbohydrates. Sa production peut être augmentée chez le chat lors d'acidocétose diabétique et lors de dysbiose (173, 182, 183). Le D-lactate peut être un facteur contribuant à l'obtention d'un « gap » anionique élevé (173).

## **1.2. Méthodes de dosage**

Le L-lactate peut être mesuré par ampérométrie ou spectrophotométrie. Le D-lactate peut être mesuré par chromatographie en phase liquide à haute performance, par chromatographie en phase gazeuse ou par électrophorèse capillaire (173, 181, 184).

## **2. Le glucose**

Il est supposé que la concentration en glucose diminue dans un fluide septique à mesure que la charge en bactéries augmente. Ceci pourrait être secondaire à une consommation du glucose par les bactéries, les cellules phagocytaires ou encore une diminution du transport du glucose du sang vers le fluide septique (178-180).

## **3. Le pH**

La diminution du pH lors d'infection d'un liquide cavitaire est probablement secondaire à la production de lactate par la glycolyse des neutrophiles et le métabolisme des bactéries (9, 178, 179, 185). Il a été démontré qu'une diminution de la pression partielle en oxygène dans le liquide synovial entraîne une diminution du pH, une augmentation de la concentration en CO<sub>2</sub> et de la concentration en lactate ce qui est en faveur d'une conversion de la glycolyse aérobie vers la glycolyse anaérobie (186, 187).

## **4. Utilité clinique des marqueurs prédictifs d'infection bactérienne**

Dans une étude rassemblant 18 chiens et 12 chats avec un épanchement péritonéal, il a été démontré que la concentration en lactate n'était pas significativement différente entre les animaux avec ou sans péritonite septique. Toutefois, chez les chiens, si la différence de concentration en lactate entre le sang et l'épanchement était inférieure à -2,0 mmol/L, l'épanchement pouvait être qualifié de septique avec une sensibilité et une spécificité de 100%. Le pH était significativement plus bas dans l'épanchement des chats avec péritonite septique comparé aux chats sans péritonite septique. Chez les chiens, une différence de concentration en glucose entre le sang et l'épanchement

inférieure à 20 mg/dL (1,1 mmol/L) était 100% sensible et spécifique pour détecter une péritonite septique. Chez les chats, cette même différence était 86% sensible et 100% spécifique (9). Dans une autre étude chez le chien, si la concentration en glucose dans le plasma moins celle dans l'épanchement abdominal était supérieure à 20 mg/dL (1,1 mmol/L), la sensibilité était de 88,2% et la spécificité de 80% (188).

Dans une étude réalisée sur 14 chiens et 2 chats, un pH inférieur à 7,2, une pCO<sub>2</sub> supérieure à 55 mmHg, une concentration en glucose inférieure à 50 mg/dL (2,8 mmol/L) et une concentration en lactate supérieure à 5,5 mmol/L dans l'épanchement péritonéal était spécifique pour la détection du péritonite septique (189).

Dans une étude réalisée sur 19 chiens et 18 chats, la concentration en lactate dans le sang et dans l'épanchement abdominal était plus élevée chez les chiens avec péritonite septique comparés aux chiens avec une effusion non septique. Une concentration en lactate supérieure à 2,5 mmol/L dans l'épanchement était 100% sensible et 91% spécifique pour prédire une péritonite septique. Si la différence de concentration en lactate entre le sang et l'épanchement était inférieure à -2.0 mmol/L, l'épanchement pouvait être qualifié septique avec une sensibilité de 63% et une spécificité de 100%. Chez les chats, la concentration en lactate dans l'épanchement était significativement plus élevée lorsque ce dernier était septique plutôt que non septique. De même, la différence de concentration en lactate entre le sang et l'épanchement était significativement plus basse chez les chats avec un épanchement septique. Une concentration en lactate supérieure à 2,5 mmol/L dans l'épanchement était 67% sensible et 67% spécifique pour prédire une péritonite septique. Si la différence de concentration en lactate entre le sang et l'épanchement était inférieure à -0,5 mmol/L, l'épanchement pouvait être qualifié de septique avec une sensibilité et une spécificité de 78% (190).

Dans une étude chez le chien, la concentration en lactate dans le liquide synovial était plus élevée lors d'arthrite septique comparée à des articulations normales, des articulations avec arthrose ou arthrite à médiation immunitaire. Une concentration en lactate supérieure à 6,5 mmol/L permettait de différencier les chiens avec arthrites septiques des autres avec une sensibilité et une spécificité de 100% (8). Dans une

autre étude, il n'y avait pas de différence de concentration en lactate entre des chiens avec ostéoarthrose secondaire à une rupture du ligament croisé crânial et des chiens normaux (191).

La concentration en L-lactate dans le liquide céphalorachidien permet de différencier, chez l'humain, une méningite septique d'une méningite non septique à un seuil de 3,9 mmol/L avec une sensibilité et une spécificité de 93% et 96% respectivement (192). Aucune étude n'a été réalisée pour ce type d'infection chez le chien ou le chat. De même, la concentration en L-lactate dans l'urine chez l'humain permet la distinction entre une pyélonéphrite et une cystite bactérienne (193).

Aucune étude ne s'est intéressée à la concentration en L-lactate pour détecter une infection dans la bile.

# **Chapitre IV : Calculs des intervalles de référence et comparaison des appareils de mesure**

## **1. Calculs des intervalles de référence**

Les valeurs de référence sont le plus souvent représentées par des intervalles de référence comprenant 95% de la population de référence en santé. Les intervalles de confiance autour des limites supérieure et inférieure de l'intervalle de référence fournissent une estimation de l'incertitude de ces limites (194).

Un minimum de 120 animaux est nécessaire afin d'établir des valeurs de référence avec des tests non-paramétriques avec un intervalle de confiance de 90% des limites de référence. Lorsque l'échantillon comprend 40 à 120 animaux, les méthodes robuste ou paramétrique avec un intervalle de confiance de 90% des limites de référence peuvent être utilisées si les données suivent la loi normale tandis que la méthode robuste est utilisée avec un intervalle de confiance de 90% des limites de référence si les données ne suivent pas la loi normale. Lorsque l'échantillon comprend 20 à 40 animaux, la méthode paramétrique avec un intervalle de confiance de 90% des limites de référence peut être utilisée si les données suivent la loi normale tandis que la méthode robuste est utilisée avec un intervalle de confiance de 90% des limites de référence si les données ne suivent pas la loi normale. En dessous de 20 animaux, il n'est pas recommandé de définir des valeurs de référence (194).

Lors du calcul des intervalles de référence, l'identification et la correction ou le retrait des valeurs aberrantes est capitale. Ces dernières sont notamment les valeurs extrêmes qui proviennent d'animaux non représentatifs de la population en santé ou les valeurs affectées par des erreurs pré-analytiques (mauvais échantillonnage), analytiques, ou post-analytiques (erreurs de transcription). Des méthodes statistiques de Dixon et Tukey existent pour détecter les valeurs aberrantes (194, 195).

De façon générale, plus un échantillon est petit plus l'incertitude sur les valeurs de référence augmente et plus les intervalles de confiance sont étendus. Il a été

recommandé que l'étendue de l'intervalle de confiance (WCI) n'excède pas 0,2 fois l'étendue de l'intervalle de référence (WRI) ( $WCI/WRI < 0,2$ ) (194-196). Toutefois, l'obtention d'un ratio  $WCI/WRI < 0,2$  est impossible pour un échantillon de moins de 55 animaux. Dans une situation où le ratio  $WCI/WRI$  est supérieur à 0,2, il est recommandé d'obtenir un plus grand échantillon d'animaux ou de considérer une valeur comme anormale lorsqu'elle est en dehors des limites inférieure et supérieure des intervalles de confiance plutôt qu'en dehors de l'intervalle de référence (196).

Afin de réaliser le calcul des valeurs de référence et des intervalles de confiance, le logiciel « Reference Value Advisor » fonctionnant avec le logiciel Excel peut être utilisé (195).

## **2. Méthode pour comparer deux appareils de mesure**

Afin de vérifier si deux appareils de mesure sont interchangeable, une étude de comparaison doit être réalisée. Cette dernière se réalise en plusieurs étapes présentées ci-dessous.

### **2.1. Estimer l'erreur aléatoire**

La première étape pour comparer deux appareils de mesure est d'estimer l'erreur aléatoire pour chaque appareil. L'erreur aléatoire est le reflet de l'imprécision de chaque appareil et est calculée par la déviation standard ou le coefficient de variation des mesures. Les objectifs de ce calcul sont notamment de vérifier la validité des mesures lorsqu'elles sont répétées sur un même appareil et d'identifier les valeurs inattendues associées à des erreurs d'identification des spécimens ou de transcription des données (197, 198).

### **2.2. Analyser les données**

L'analyse des données débute par le calcul du coefficient de corrélation ( $r$ ) qui est un moyen de définir s'il existe une association entre deux appareils de mesure et s'il est utile de réaliser une régression linéaire. Le coefficient de corrélation permet de mesurer le degré d'association mais pas le degré d'interchangeabilité des appareils (197-199).

Lorsque  $r \geq 0,975$ , la régression linéaire simple permet de savoir s'il existe une erreur constante ou proportionnelle entre les deux appareils représentées réciproquement par l'ordonnée à l'origine et la pente de la courbe de régression linéaire. Une erreur constante est présente lorsque l'ordonnée à l'origine diffère significativement de 0 et une erreur proportionnelle est présente si la pente de la courbe diffère significativement de 1. Lorsque  $r \leq 0,975$ , une régression alternative doit être utilisée comme la régression de Passing-Bablok (197, 200-202).

L'erreur systématique est la différence entre la valeur mesurée par un appareil de mesure testé et la valeur considérée comme vraie mesurée par un appareil de référence. L'erreur systématique est composée des erreurs constante et proportionnelle. L'erreur constante indique qu'une méthode de mesure donne une valeur systématiquement au-dessus ou en-dessous de la valeur de l'autre appareil de mesure. L'erreur proportionnelle indique que la différence de mesure entre deux appareils est proportionnelle à la valeur mesurée (197).

### **2.3. Juger l'acceptabilité des données**

Il existe deux méthodes pour juger de l'acceptabilité des données mais celle utilisée dans l'étude présentée dans ce manuscrit est basée sur l'imprécision inhérente. Avec cette méthode, les données sont représentées dans un graphique de Bland-Altman. En ordonnée se trouve la différence de mesure entre les appareils (A-B) et en abscisse la moyenne de mesure entre les appareils ( $[A+B]/2$ ). Ensuite, les lignes représentant  $0 \pm$  les limites cliniquement acceptables sont ajoutées au graphique. Pour que les deux appareils de mesure soient interchangeables, il faut que 95% des mesures soient situées les limites cliniquement acceptables (197-199, 203-207).



## **PARTIE B : ARTICLE**

# **Bile composition of healthy cats and cats with suspected hepatobiliary disease using point-of-care analyzers: a prospective preliminary study**

- Accepted in the Canadian Journal of Veterinary Research on the 06/21/2019 -

Romain Huvé<sup>1\*</sup>, Elizabeth O'Toole<sup>\*</sup>, Carolyn Gara-Boivin<sup>#</sup>, Pascal Fontaine<sup>\*</sup>, Marie-Claude Bélanger<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Department of Clinical Sciences, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, C.P. 5000, Saint-Hyacinthe, Québec J2S 7C6, Canada

<sup>#</sup>Department of Pathology and Microbiology, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, C.P. 5000, Saint-Hyacinthe, Québec J2S 7C6, Canada

1. Corresponding author:

Romain Huvé, DVM

Email: [romain.huve@umontreal.ca](mailto:romain.huve@umontreal.ca)

Mailing address: Faculté de Médecine Vétérinaire, Département des sciences cliniques, 1525 Rue des Vétérinaires, Saint-Hyacinthe, QC J2S 8H5, Canada

## **Keywords**

Bile composition, hepatobiliary disease, feline cholangitis, cholecystocentesis, point-of-care analyzers

## **Abstract**

Hepatobiliary disease is common in cats; however, little is known about the bile composition in these diseased states nor in healthy cats. The aims of this study were to evaluate several analytes from the bile of healthy cats and to investigate the usefulness of measuring these variables to predict bacterial cholangitis. Cats were prospectively enrolled and divided into 3 groups: 21 healthy cats (group 1); and 14 cats with suspected hepatobiliary disease: 9 without bacterial biliary infection (group 2) and 5 with bacterial biliary infection (group 3). Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis was performed on each cat. Bile cytology and culture, as well as analysis of bile including pH, lactate, and glucose levels using several point-of-care devices, were performed. Reference values for several bile analytes in healthy cats were calculated and are presented in this study. The pH was not significantly different between the 3 groups ( $p=0.88$ ) nor was the lactate concentration ( $p=0.85$ ). Sodium concentration was significantly higher in group 3 compared to group 2 ( $p<0.05$ ). Bile pH, lactate, and glucose levels were unable to predict the presence of a bacterial infection in the bile.

## **Introduction**

Cholangitis is a common disease in cats and neutrophilic and lymphocytic cholangitis are often found on histopathology (1). In fact, three clinical syndromes have been recognized in this species: neutrophilic, lymphocytic, and chronic cholangitis (2). Neutrophilic cholangitis is most often associated with ascending bacterial infections of gastrointestinal origin, lymphocytic cholangitis with an immune-mediated process, and chronic cholangitis with liver fluke infestation (1-3).

Liver biopsy with histopathological evaluation is required for a definitive diagnosis, making an ante-mortem diagnosis a challenge in certain clinical situations (1, 4). Unfortunately, clinical findings, hematology, and serum biochemistry – particularly liver enzyme activity – do not predict bacterial infection within the bile (3, 5).

Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis (PUC) has been described for bile sampling and is a safe procedure in the cat. (6-8). Bile cytology may reveal white blood cell infiltrates and/or bacteria, and bile culture is a more sensitive diagnostic tool to confirm a septic process when compared to liver tissue culture (5, 9). However, some controversy still exists since bile specimens with a positive culture result are not always associated with cytological visualization of bacteria and vice versa (8, 9). Therefore, the evaluation of other diagnostic tests to rapidly predict bacterial cholangitis in cats would be of benefit in the clinical management of these patients. Measurement of various biochemical variables in certain body fluids of dogs and cats – particularly lactate, glucose, and pH – have been useful in the detection of bacterial infection, but these analytes have never been tested in bile (10, 11).

The main hypothesis of this study was that the presence of bacteria in bile would alter biliary composition and would result in an increased lactate concentration, a decreased pH, and a decreased glucose concentration as compared with the bile of healthy cats. The aims of this study were: 1. establish reference values for several analytes within the bile of healthy cats - including pH, glucose, and lactate - using point of care blood gas analyzers (POC), 2. evaluate the repeatability and level of agreement of these POC analyzers, and 3. investigate whether any of these analytes could predict bacterial cholangitis in cats.

## **Materials and methods**

This study was designed as a prospective clinical observational study and received approval from the institutional animal ethics committee.

The healthy group (group 1) consisted of cats older than 1 year of age enrolled from our institutional teaching colony. Cats were deemed healthy based on history, physical examination by a board-certified internist or criticalist, complete blood cell count, serum biochemistry, measurement of total thyroxine concentration if they were  $\geq 4$  years of age or if a thyroid nodule was palpated, FeLV/FIV testing (Combo Plus FIV/FeLV; IDEXX Laboratories, Markham, Ontario), urinalysis, and abdominal ultrasound. All

healthy cats received the same diet (Royal Canin Veterinary Diet, Feline adult dry food, Puslinch, Ontario) for at least one week prior to enrollment.

Client-owned cats with suspected hepatobiliary disease (affected cats) were enrolled after informed consent had been obtained from the owners. To be considered for enrollment in this group, the cats had to have clinical signs that could be attributed to a hepatobiliary disease (i.e. anorexia, lethargy, vomiting, diarrhea, icterus, weight loss or some combination of these signs). Moreover, they had to show increased concentrations of ALT, ALP, GGT, or total bilirubin on serum biochemistry and/or, demonstrate sonographic hepatobiliary abnormalities. Cats were excluded if they had received antibiotics within 7 days prior to enrollment in the study, received oral corticosteroid therapy within 3 months prior to enrollment in the study or if total thyroxine concentration was above reference range. Affected cats were further subdivided into those with non-infected bile (group 2) and those with bacterial infected bile (group 3) according to biliary cytology and culture results. Affected cats were included in group 3 if a positive culture was obtained or if bacteria were observed on cytology by a board-certified clinical pathologist blinded to the history, clinical findings, and culture results of the animal. A complete abdominal ultrasound was performed by a single board-certified radiologist with a specific focus on size and echogenicity of the liver, common bile duct diameter and wall thickness, gallbladder wall appearance and thickness, and appearance of the bile in the gallbladder (i.e. the presence of biliary sludge). The bile specimen was obtained via PUC under anesthesia using a short-acting intravenous anesthetic protocol. Healthy cats received buprenorphine 0.02mg/kg IV (Vetergesic, Champion Alstoe Animal Health Inc, Whitby, Ontario) and alfaxalone up to 2mg/kg IV to effect (Alfaxan, Jurox Animal Health, Rutherford, New South Wales, Australia). The anesthetic protocol for the affected cats was established individually at the discretion of the attending anesthesiologist. The gallbladder was emptied as completely as possible during the procedure and if a volume of less than 1 ml of bile was obtained, the cat was excluded from the study. Several drops of bile were introduced into an anaerobic transport medium (Starswab Anaerobic Transport System, Starplex, Etobicoke, Ontario) and immediately transported to the laboratory. 200µl of bile were

placed in an EDTA tube; direct and centrifuged bile smears were prepared immediately after collection. The remainder of the bile was utilized for analyte measurements with a lactate analyzer (Lactate Pro, Arkray Inc, Edina, Minnesota, USA), a glucometer (AlphaTrak 2, Zoetis, Kirkland, Quebec), and POC analyzers: i-STAT (EC8+ cartridge, i-STAT Handheld Analyzer, Abbott point-of-care, Mississauga, Ontario) and Enterprise point-of-care (EPOC) (Element POC, Heska corporation, Barrie, Ontario). All analyte measurements were performed within 20 minutes of specimen collection. The measurement of the biochemical variables occurred in the following manner: first, the lactate and glucose concentrations were measured 3 times on each sample with the handheld analyzers, then measurements with POC analyzers were performed one after the other beginning with the EPOC device. The biochemical variables of primary interest in this study were the pH, lactate, and glucose; however, the POC analyzers also provided additional results. The POC analyzers measured lactate and glucose concentration via amperometry. The handheld lactate and glucose analyzers also measured lactate and glucose concentration via amperometry. Furthermore, pH, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, iCa<sup>2+</sup> (only on the EPOC), Cl<sup>-</sup> and PCO<sub>2</sub> were measured via potentiometry and the hemoglobin via conductometry on both POC analyzers. Bicarbonate, base excess (BE), total carbon dioxide (TCO<sub>2</sub>), hematocrit (HCT), and anion gap (AG) are calculated values on both POC analyzers.

A power calculation was not performed at the start of this study due to the lack of clinical information available to enable this calculation. Therefore, the number of animals required to observe a statistically significant difference in the lactate variable was calculated based on preliminary results of the study. At the time of the calculation, 8 healthy cats and 5 affected cats had been enrolled. A sample size calculation revealed that a minimum of 7 cats in the healthy group and 7 cats in the affected group were required to demonstrate a statistically significant difference in lactate concentration at an alpha threshold of 5% with a t-test for 2 independent samples at a power of 85%. Given this calculation our goal was to enroll 20 affected cats to be able to perform a method comparison experiment between the POC analyzers and the handheld lactate analyzer and to compare analyte differences between the various clinical groups.

Furthermore, we aimed to enroll a minimum of 20 healthy cats such that reference values (RV) for the biochemical variables could be calculated. RVs were established and confidence intervals (CI) around the upper and lower reference limits were calculated following guidelines from the American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP) (12) with Reference Value Advisor v2.1 macro (13). Outliers in the data were identified using Dixon and Tukey methods. Parametric or robust methods were used and 90% CIs around the reference values were determined using bootstrap methods. CIs provide an estimate of the uncertainty of the RVs limits and should not exceed 0,2 times the width of the RIs; WCI/WRI ratios (width of the CI/width of the RVs) were calculated and considered acceptable if  $<0.2$  (12). The reliability of each machine was assessed based on the calculated coefficient of variation (CV) for each analyte (14) and compared to published precision targets in the blood (15-17). To evaluate the interchangeability of the POC machines a method comparison study was performed. Pearson's coefficients of correlation were calculated between the machines for each analyte of interest to determine if there was a significant correlation between them and which regression model was to be applied for data analysis. If there was no significant correlation between the machines, no regression analysis was performed. Regression analysis was performed using a web-based software (App URL: [bahar.shinyapps.io/method\\_compare/](http://bahar.shinyapps.io/method_compare/)) and was used to detect presence of a proportional and/or constant error. To graphically evaluate the data, Bland-Altman plots were constructed for the following analytes (pH, PCO<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Lactate) by plotting %Difference (i-STAT-EPOC) against the mean value of both methods for each variable using GraphPad Prism 8 software (Graphpad Software Inc, San Diego, California, USA) (18). The method of comparison between the POC analyzers was analyzed by the Bland Altman method and with the application of preset clinically acceptable levels of agreement (17, 19, 20). As there are no published preset analytical specifications for bile, the authors subjectively created clinically acceptable target values for agreement based on published whole blood results for the analytes of interest, prior to the start of the study (15-17, 21). For the two methods to be interchangeable, 95% of the data points had to fall within the clinical limits of agreement (19). In order to evaluate the difference between analytes in the 3 groups, a Kruskal-Wallis test was used for the

initial comparison of the various analytes and the Mann-Whitney test was performed for follow-up pairwise comparisons if the p-value of the Kruskal-Wallis test was <0,05. Each p-value was divided by 3 to get the Bonferroni corrected p-value for the Mann-Whitney test. All analyte data were evaluated for normality using Anderson-Darling test. The software SPSS (IBM SPSS Statistics 25, Markham, Ontario) was employed for this analysis.

## Results

For group 1, forty cats were recruited and twenty-one were included. Cats were excluded for the following reasons: stomatitis (n=1), heart murmur associated with an obstructive hypertrophic cardiomyopathy (n=1), abnormalities on CBC or biochemistry (n=2), abnormalities detected on the abdominal ultrasound (n=11; 9 cats with significant changes in intestinal wall thickness, 1 cat with a duodenal mass and 1 cat with signs consistent with feline triaditis), volume of collected bile <1ml (n=1), cytology not consistent with bile (n=1), positive bile culture with bacterial skin contaminants (n=2). Fourteen client-owned cats were included in the affected group: nine in group 2 and five in group 3. White bile was present in two cats (one in group 1 and one in group 2). These cats were excluded from the study because cytology slides did not contain any material, so the fluid could not be confirmed as being bile.

The median age for the healthy cats was 2.9 years [1-5.2] and for the affected cats was 10.9 years [2.8-14]. The affected cats were significantly older than healthy cats ( $p < 0.0001$ ). Within the healthy group there were 4 castrated males, 13 spayed females, and 4 females, and in the affected group there were 3 castrated males and 11 spayed females. No statistical difference in sex distribution was observed between the healthy and affected cats ( $p = 0.45$ ). In the affected cats, the clinical signs and physical examination findings most frequently observed were anorexia (n=13), vomiting (n=12), lethargy (n=9), dehydration (n=8), hyperthermia (n=5), weight loss (n=5), and icterus (n=4).

Calculated CV for pH,  $PCO_2$ ,  $HCO_3^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ , glucose, and lactate for each of the POC or handheld analyzers are presented in Table 4. As glucose concentration was



undetectable in a majority of bile specimen, further data analysis was not performed. The CV for each of the analyzers was below that of the recommended precision targets on blood, thus demonstrating that the machines were repeatable and reliable for the measurement of the analytes of interest in bile. The calculated RVs and 90% CIs around the reference upper and lower reference value for the EPOC and the handheld lactate analyzer are presented in Table 5. Similar calculations were performed for the i-STAT POC analyzer (data not shown). It was not possible to establish RVs for chloride and hematocrit as they were not within the measurement range of the POC analyzers. The glucose concentration was beneath the lower limit of detection for the handheld glucometer (<1.1 mmol/l) for all healthy cats with the exception of 2 cats that had a glucose concentration of 1.2 mmol/l and 1.3 mmol/l, respectively. The WCI/WRI ratio was between 1.3 and 1.6 for all analytes on the EPOC machine.

Correlation statistics for the i-STAT-EPOC and the Lactate-EPOC analyzers are reported in Table 6. The Pearson's correlation coefficient ( $r$ ) was not statistically significant for the lactate analyte and therefore, no regression was performed for this analyte. The Passing-Bablok regression analysis revealed the presence of proportional and constant errors in pH and  $\text{Na}^+$  and only a constant error in  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{K}^+$  analytes. Agreement using Bland-Altman graphs and preset clinically acceptable levels of agreement were assessed for pH (Figure 7),  $\text{PCO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$ , and there was no acceptable level of agreement between the machines for any these analytes (Table 7).

In group 3 there were 5 cats that met the inclusion criteria; one cat showed bactibilia on cytology, one cat had a positive culture but no bactibilia on cytology, and the remaining three cats had both cytologic bactibilia and a positive culture. Of the latter 3 cats, 2 had degenerated neutrophils present on cytology. Positive culture results identified the following bacteria: *E.coli* (n=3), *Streptococcus* alpha-hemolytic (n=1), and *Enterococcus faecium* (n=1). One cat had multiple bacteria present (*E.coli* and *Enterococcus faecium*).

All analyzers yielded results among healthy cats, however, this was not the case in the affected cats. For example, it was not possible to measure pH with the i-STAT machine

for 4 affected cats (three in group 2 and one in group 3) and with the EPOC machine for one cat in group 2. The authors therefore chose to make comparisons between the 3 groups utilizing only the EPOC and lactate analyzers as they subjectively performed better.

On the EPOC analyzer, there was no significant difference between the 3 groups for the pH ( $p=0.88$ ) and lactate ( $p=0.85$ ) analytes (Figures 8A and 8B). Furthermore, there were no statistically significant differences between the groups when lactate was analyzed with the handheld lactate analyzer ( $p=0.72$ ). Sodium and  $PCO_2$  were significantly higher in group 3 compared to group 1 ( $p<0.01$ ) and  $Na^+$  was significantly higher in group 3 compared to group 2 ( $p<0.05$ ) (Figures 9A and 9B). The potassium was significantly lower in group 2 compared to group 1 cats ( $p<0.01$ ) (Figure 9C). The Na/K ratio was significantly lower in group 1 compared to group 3 ( $p<0.01$ ). Glucose concentration in the bile of affected cats was always less than 1.1 mmol/l with the exception of one cat in group 3 (3.5 mmol/l) and one cat in group 2 (23.7 mmol/l) which were both diagnosed with diabetes mellitus. The diagnosis was made based on consistent clinical signs and the presence of persistent hyperglycemia and glucosuria.

## **Discussion**

The primary objective of this study was to measure several analytes of bile in healthy cats and to investigate whether these analytes had any predictive properties for the early detection of biliary bacterial infection in cats with suspected cholangitis. In order to accomplish this goal, we investigated the use of POC analyzers and handheld lactate and glucose analyzers. These were employed to assess if they could provide rapid and reliable cage-side results on bile in healthy cats and cats with suspected hepatobiliary disease. All analyzers were deemed repeatable and reliable, with the exception of the glucometer as the measured values for biliary glucose concentration in the majority of cats were below the detection threshold. Subjectively, the EPOC analyzer performed better than the i-STAT analyzer in the affected cat group and was therefore utilized for the clinical comparisons.

Reference values were calculated for all analytes on the EPOC and i-STAT machines, however, the WCI/WRI ratios were higher than those recommended by the ASVCP guidelines. This was expected as it has been demonstrated that under real conditions, the WCI/WRI < 0.2 requirement cannot be fulfilled for reference sample groups with  $n < 55$  (22). Although clinically useful, caution should therefore be employed in the application of the RVs presented in this preliminary study to a more generalized population as there is likely significant variability due to the small reference sampling group. Furthermore, when the imprecision of the reference limits is high, it is recommended that the point at which a result may be considered abnormal should not be the reference limit, but rather the upper and the lower limit of the CI (22).

There was no agreement between the POC analyzers for any of the analytes evaluated and there was no significant correlation between the EPOC and handheld lactate analyzers for the lactate analyte. The lack of agreement between these POC analyzers is also present in canine blood and therefore it may not be surprising that there were similar results in bile (17). This implies that if bile acid-base balance, electrolytes, or lactate variables are to be monitored, the same analyzer must be employed for these measurements.

POC analyzers did not always yield results among affected cats. Clinically, an alteration in the viscosity of bile was observed in several of them and we hypothesized that this was the main reason for the inability to obtain results. Indeed, when the viscosity of the bile is increased it may not flow within the cartridge to gain access to the measurement electrodes.

A specific clinical goal of this study was the evaluation of pH, glucose, and lactate analytes to assess if they were able to predict the presence of bacteria in the bile of affected cats. There was no difference in lactate concentration among the groups with either the EPOC or handheld lactate analyzer. A reason for these results could be that these analyzers only detect the L-lactate whereas bacteria may synthesize both the L-lactate and D-lactate stereoisomers (23). Considering that the measurement of D-lactate is currently only available in specialized laboratories (23) and that the clinical purpose of this study was to evaluate bedside tests, this measurement was not

performed. The small number of affected cats also represents an important limitation in this preliminary study to detect a difference among the groups.

The bile of healthy cats contained little or no glucose. This corresponds to what has been observed in human, rabbit and rat bile. In rats, the intracellular concentration of free glucose in the liver has been found to parallel the plasma concentration (24) but cholangiocytes possess sodium-glucose transport proteins on the apical membrane and glucose transporters on the basolateral membrane that allow for the reabsorption of glucose from the bile to the liver (25). It is therefore possible that cholangiocytes in cats also contain comparable channels for glucose reabsorption, however, further studies are required to confirm this hypothesis. One interesting finding in the present study was that glucose was detected in the bile of two diabetic cats. In rats and humans, glucose may be present in the bile when there is a supraphysiologic level of glucose in the blood which exceeds the threshold for biliary glucose reabsorption (24, 26). It is probable that there is a similar mechanism for the reabsorption of glucose from the bile in cats, however this remains to be determined. Given the preliminary results reported in this study, the measurement of neither glucose, pH, nor lactate in the bile is useful to predict the presence of bacteria in the bile of cats.

The pH of bile in healthy cats in this study was  $7.6 \pm 0.2$  (mean  $\pm$  standard error of mean) and was higher than previously described in other studies:  $6.61 \pm 0.29$  (27);  $6.70 \pm 0.14$  (28). These differences may be attributed to the different analyzers utilized or to the duration of pre-sampling fasting time which was 12h in our study versus 24h in the other studies, as it has been demonstrated that there is a continuous acid secretion by the mucous membrane of the gallbladder (27). Also, the influence of diet on biliary composition in the cat has not been investigated. In this study, healthy cats were all fed the same commercial cat food for 7 days prior to study enrollment. This time was chosen arbitrarily, however, after the beginning of this study, it was demonstrated that high-fat-high-cholesterol diet or a low-fat diet for 2 weeks induced changes in gallbladder bile acid composition and gallbladder motility in dogs (29). Given these results in the dog, an alteration in the diet of 7 days may be insufficient to account for any dietary changes in the bile of cats.

Generally, the lower pH in septic effusions is due, in part, to the production of lactate from neutrophilic glycolysis and bacterial metabolites (10). The fact that the pH was not significantly different between the groups in this study may partially be explained by the lack of significant difference in lactate between the groups or the small number of cats with neutrophils present on cytology.

The PCO<sub>2</sub> was significantly higher in group 3 compared to group 1. This is in contrast to a study where a buffer solution was instilled into a cannulated gallbladder and demonstrated a pH decrease and PCO<sub>2</sub> increase in normal feline bile and no alteration of pH or PCO<sub>2</sub> in the presence of inflammation (30). These divergent results could be attributed to the fact that the inflammation was not septic in the latter study. The increase of PCO<sub>2</sub> may result from the reaction between H<sup>+</sup> and bicarbonate ions, yielding CO<sub>2</sub> and water (31) but further studies are warranted to confirm this hypothesis.

Sodium was significantly higher in group 3 compared to groups 1 and 2. There may be a net loss of free water in the bile in the presence of bacterial infection. However, this seems unlikely considering the fact that in an inflamed feline gallbladder there is a net secretion of water whereas in the normal gallbladder there is a net absorption (30). As the Na/K ratio was significantly lower in group 1 compared to group 3 in this study, an alteration in the function of the Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase pump (31) in the gallbladder wall in the presence of inflammation and/or infection is suspected. Some factors hypothesized to contribute to Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump dysfunction include membrane damage, impaired ATP production, or impaired hormone receptors involved in transport control, such as aldosterone. Indeed, it has been demonstrated in the rabbit that aldosterone has an influence on sodium excretion in the bile (32, 33). The effect of aldosterone on bile composition in the cat is unknown, however this merits further investigation.

There are several limitations to this study. Firstly, the diagnosis of hepatobiliary disease was a presumptive diagnosis as liver biopsies were not performed to definitively confirm the diagnosis histologically. Since only 2 of the 5 cats in the bacterial infected group had neutrophils observed on cytology, a transient bactibilia instead of an infection cannot be totally excluded. However, bile of healthy cats is deemed sterile (2) and none of the healthy cats in the present study had evidence of transient bactibilia. In a previous

study (34), no bacteria were found in the gallbladder of 10 healthy cats and only one study has demonstrated transient bactibilia in cats following the implantation of polyethylene tubes and human cholesterol stones into the gallbladder (35). Furthermore, the POC analyzers have not been validated for analysis of bile and consequently, influence of bilirubin on the analyte measurements cannot be excluded. Incidentally, a significant number of data points were not able to be obtained in affected cats – in particular on the i-STAT machine – thus further compromising our results, and this could limit the use of POC analyzers in the analysis of bile. In addition, there were only 5 cats recruited into group 3 and therefore the absence of statistical differences between the groups could be due to the fact that the study was underpowered.

In conclusion, this prospective observational preliminary study showed that analytes can be measured in bile with point-of-care blood gas analyzers and this study yielded reference values for bile analytes in healthy cats. The POC analyzers used were not interchangeable but each machine demonstrated acceptable reliability for the measured analytes. The bile of healthy cats contains little to no glucose. There was no difference in pH or lactate concentration among the groups. Sodium was the only analyte that demonstrated significant differences between group 2 and 3. Further studies evaluating the biliary composition of cats are required before sodium concentration may be used in the prediction of bacteria in the bile of cats.

## **Acknowledgements**

The authors thank Mario Guay and Olivier Labelle for technical assistance.

This research project was supported by internal grants from the University of Montreal: “Fonds du Centenaire” and “Fonds en santé des animaux de compagnie”.

## Figures

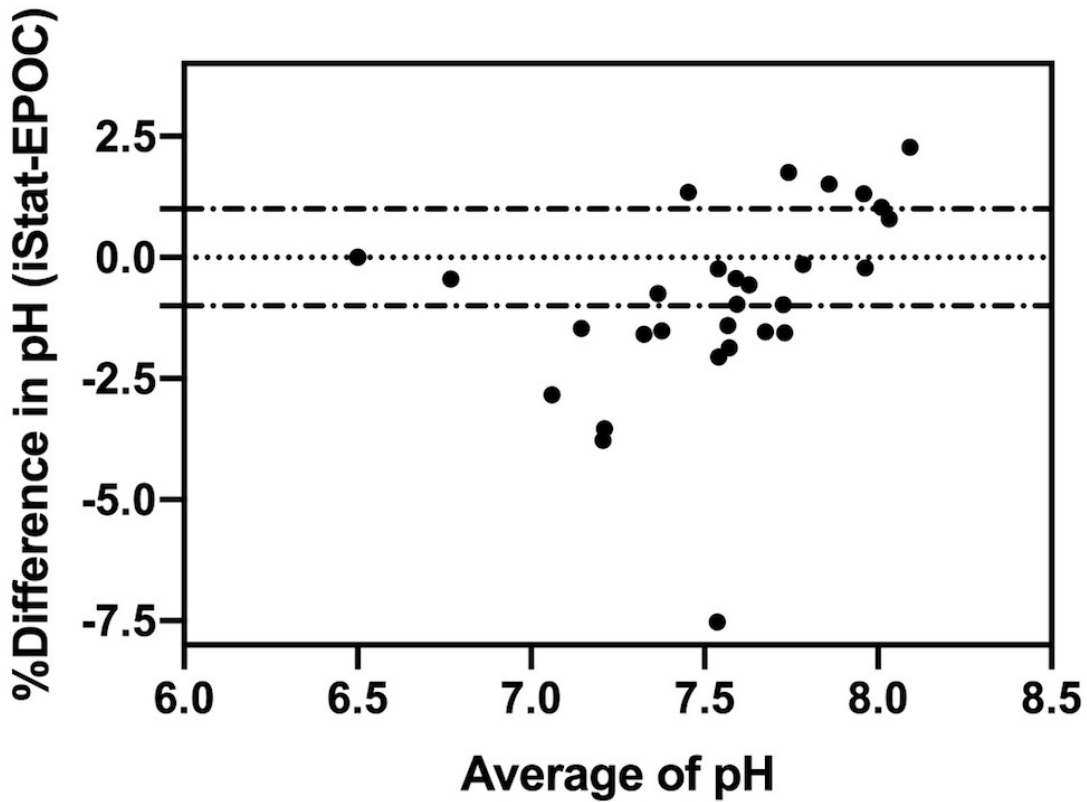


Figure 7: Bland-Altman percentage difference plots for the evaluation of the clinical interchangeability of the 2 POC analyzers with the clinical limits of agreement determined by subjective preset limits based on whole blood values for bile pH.

The subjective clinically acceptable limits of agreement are graphed around the mean difference of zero (fine dotted line) and are represented by the dashed-dot-dashed black lines.

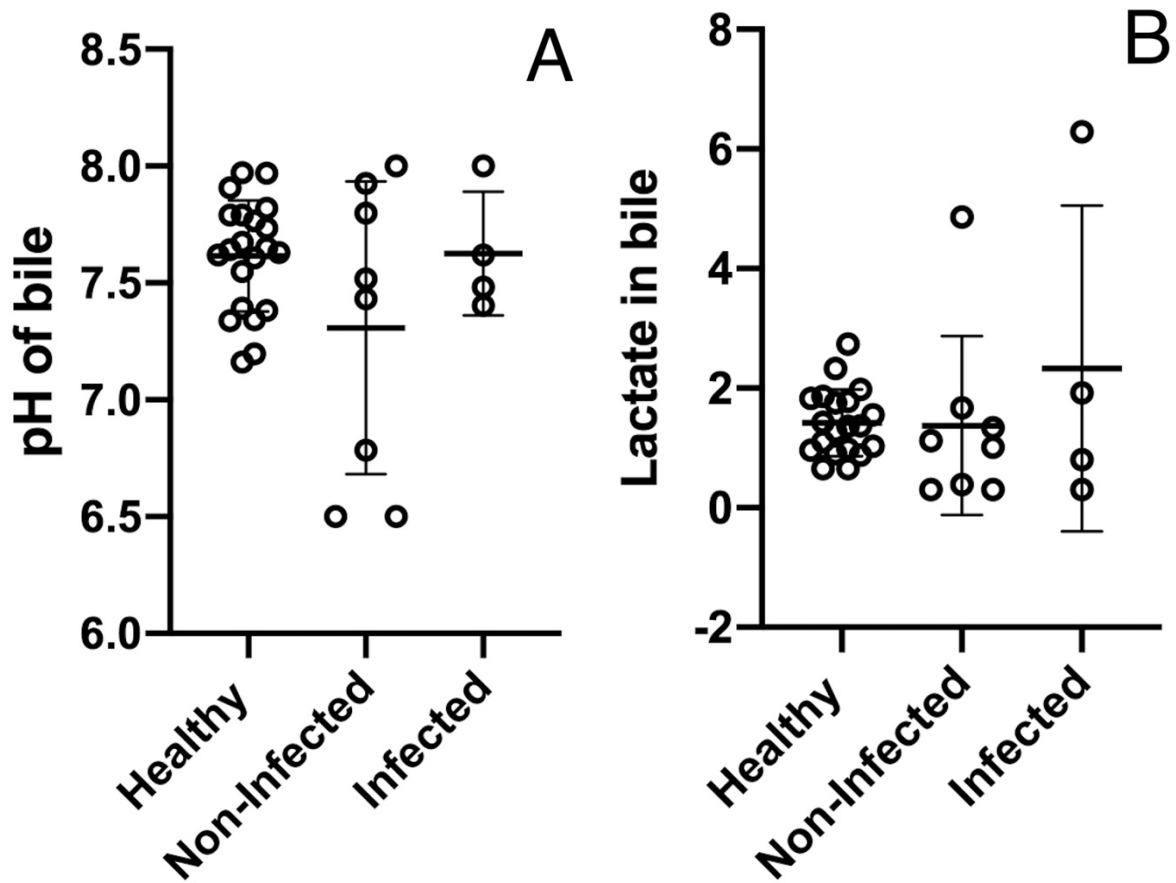


Figure 8: Scatter plots for bile pH (A) and lactate (B) between the 3 groups. These analytes were measured on the EPOC analyzer.

Horizontal black line represents the mean and the error bars the standard deviation of the mean.



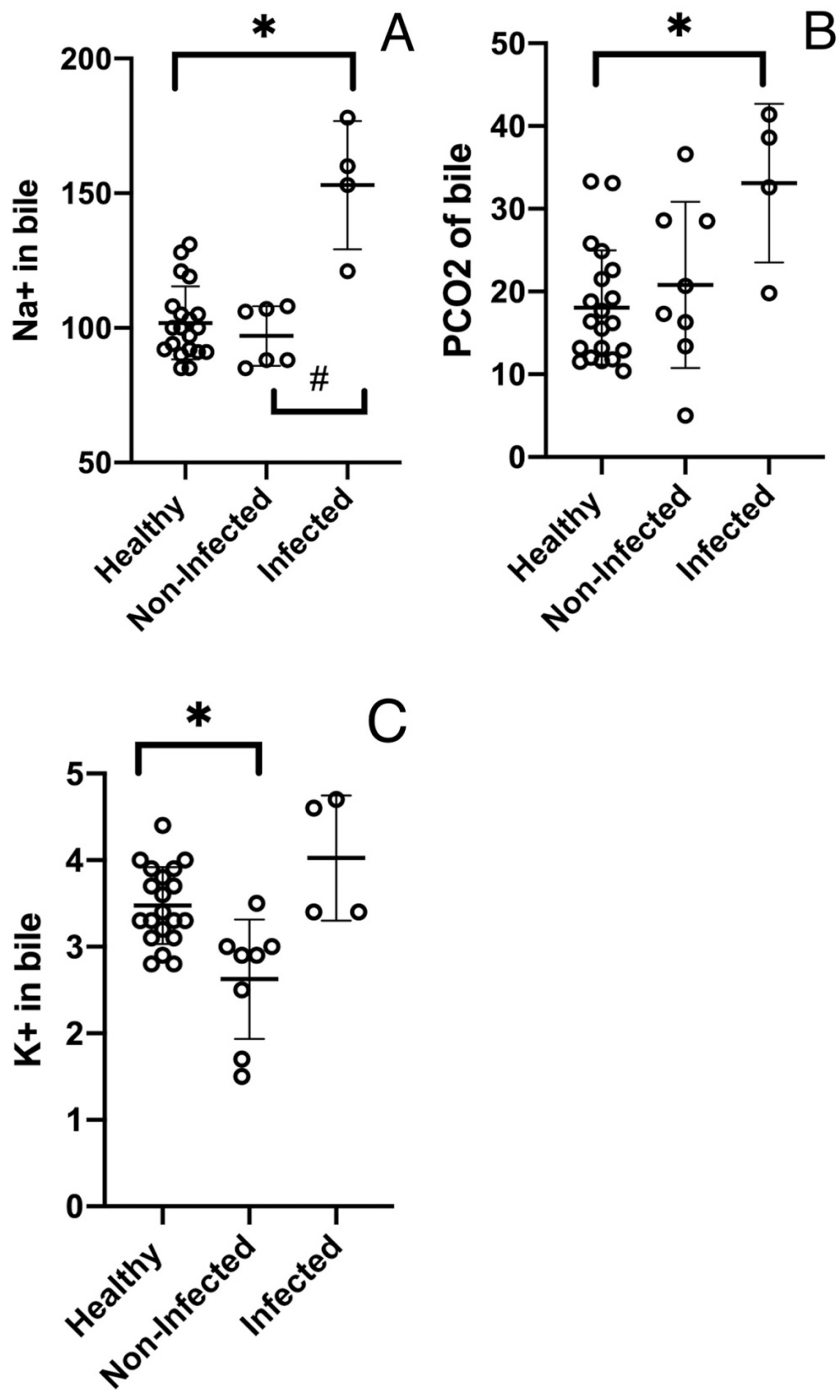


Figure 9: Scatter plots for bile Na+ (A), PCO2 (B) and K+ (C) between the 3 groups. These analytes were measured on the EPOC analyzer.

Horizontal black line represents the mean and the error bars the standard deviation of the mean. \* $p < 0.01$ ; # $p < 0.05$ .

## Tables

	Precision target values (CV%)	i-STAT CV%	EPO C CV%	Lactate Analyzer CV%
pH	0.5*	0.1	0.2	-
PCO <sub>2</sub>	4*	4.1	1.7	-
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	3.2	1.8	-
Sodium	2*	0.7	0.6	-
Potassium	4*	1.1	0	-
Glucose	2.3†	0	0	-
Lactate	13.6†	-	4.2	5.1

\* Reference 16; † Reference 17

Table 4: Recommended precision target values for blood gas and electrolyte analytes on blood samples compared to obtained CV for POC analyzers used for bile assessment.

Published target values are not available for bicarbonate

Analytes	Units	N	Mean	Med	SD	Min	Max	RV	Lower 90% CI*	Upper 90% CI*	Method	Distribution
pH	-	20	7.61	7.64	0.24	7.16	7.97	7.09-8.12	6.95-7.27	7.95-8.29	P	G
PCO <sub>2</sub>	mmHg	20	-	16.8	7.3	10.4	33.3	1.5-32.1	-3.9-6.6	25.9-37.7	R	NG
PO <sub>2</sub>	mmHg	20	128.1	124.2	24.9	92.5	179.7	74.7-181.5	59.3-92.8	164.4-199.2	P	G
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mmol/L	19	18.4	17.2	9.1	5.1	35.0	0-37.9	-7.0-5.6	31.5-44.5	P	G
BE	mmol/L	20	-1.7	-2.5	13.9	-	30.0	-31.5-23.0	-40.1 to -21.4	18.5-37.8	P	G
Na	mmol/L	20	-	99	14	85	131	70-128	61-79	117-140	R	NG
K	mmol/L	20	3.5	3.4	0.4	2.8	4.4	2.5-4.4	2.3-2.8	4.1-4.7	P	G
iCa	mmol/L	20	0.67	0.67	0.16	0.38	0.95	0.32-1.02	0.22-0.44	0.91-1.14	P	G
Lactate	mmol/L	20	1.4	1.4	0.6	0.7	2.7	0.2-2.6	-0.1-0.6	2.2-3.0	P	G
Creatinine	umol/L	20	406	422	152	139	672	80-732	-14-190	628-840	P	G
Lactate (Lactate Pro)	mmol/L	21	5.4	5.4	1.8	2.2	8.4	1.6-9.2	0.6-2.9	8.0-10.4	P	G

Gaussian(G), Maximum (Max), Median (MED), Minimum (Min), Non-Gaussian (NG), Parametric (P), Robust (R), Standard deviation (SD).

\*90% CIs of the lower and upper limits of the reference value

Table 5: Reference values for bile in healthy cats as performed by the EPOC and Lactate Pro analyzers.

RVs were established and CIs around the upper and lower reference limits were calculated following guidelines from the American Society for Veterinary Clinical Pathology.

	N	Pearson's r	Regression	Slope	95% CI of slope	Intercept	95% CI of intercept
pH	30	0.943 <sup>a</sup>	1.51+0.81x	0.81	0.7-0.95	1.51	0.44-2.3
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	29	0.823 <sup>a</sup>	-3.31 +1.07x	1.1	0.83-1.4	-3.31	-10.3-1.0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/L)	25	0.96 <sup>a</sup>	0.57+1.0x	1.03	0.95-1.15	0.57	-0.86 to -1.6
Na <sup>+</sup> (mmol/L)	25	0.96 <sup>a</sup>	-70.6+1.48x	1.48	1.29-1.77	-70.6	-103.8 to -48.6
K <sup>+</sup> (mmol/L)	29	0.64 <sup>b</sup>	-1.94 +1.24x	1.24	0.83-2.0	-1.94	-5 to -0.25
Lactate (mmol/L)	31	0.01					

<sup>a</sup>(p<0.001) and <sup>b</sup>(p=0.005)

Table 6: Correlation statistics for the comparison of i-STAT and EPOC analyzers and the Lactate Pro and EPOC analyzers.

Include the number of comparisons, Pearson's correlation, correlation regression equations (by Passing-Bablok regression technique), slope and intercept each with 95% confidence intervals.

	N	%Mean Difference	SD mean differences	LOA of % differences	Clinically acceptable target values for agreement (%)	Results within clinically acceptable agreement values (%)
pH	30	-0.84	2	-4.7 to 3.0	1	36.7
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	29	9.4	24.63	-38.8 to 57.8	15	44.8
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/L)	25	-5.6	14.28	-33.69 to 22.30	15	68.0
Na <sup>+</sup> (mmol/L)	25	13	6.6	-0.22 to 26	5	20.0
K <sup>+</sup> (mmol/L)	25	23	10	2.2 to 43	15	20.0

Table 7: Method of comparison study between the i-STAT and the EPOC analyzers. Include the number of comparisons, percentage mean differences, standard deviation (SD) of the percentage mean difference, calculated percentage limits of agreement, subjective a priori clinically acceptable limits of agreement based on published whole blood results, and the percentage of results within the clinically acceptable limits.

## References

1. Bayton WA, Westgarth C, Scase T, Price DJ, Bexfield NH. Histopathological frequency of feline hepatobiliary disease in the UK. *J Small Anim Pract* 2018;59(7):404-410.
2. Boland L, Beatty J. Feline Cholangitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017;47(3):703-724.
3. Callahan Clark JE, Haddad JL, Brown DC, Morgan MJ, Van Winkle TJ, Rondeau MP. Feline cholangitis: a necropsy study of 44 cats (1986-2008). *J Feline Med Surg* 2011;13(8):570-576.
4. Fragkou FC, Adamama-Moraitou KK, Poutahidis T, Prassinou NN, Kritsepi-Konstantinou M, Xenoulis PG, et al. Prevalence and Clinicopathological Features of Triaditis in a Prospective Case Series of Symptomatic and Asymptomatic Cats. *J Vet Intern Med* 2016;30(4):1031-1045.
5. Wagner KA, Hartmann FA, Trepanier LA. Bacterial culture results from liver, gallbladder, or bile in 248 dogs and cats evaluated for hepatobiliary disease: 1998-2003. *J Vet Intern Med* 2007;21(3):417-424.
6. Savary-Bataille KC, Bunch SE, Spaulding KA, Jackson MW, Law JM, Stebbins ME. Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis in healthy cats. *J Vet Intern Med* 2003;17(3):298-303.
7. Byfield VL, Callahan Clark JE, Turek BJ, Bradley CW, Rondeau MP. Percutaneous cholecystocentesis in cats with suspected hepatobiliary disease. *J Feline Med Surg* 2017;19(12):1254-1260.
8. Schiborra F, McConnell JF, Maddox TW. Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis: complications and association of ultrasonographic findings with bile culture results. *J Small Anim Pract* 2017;58(7):389-394.
9. Peters LM, Glanemann B, Garden OA, Szladovits B. Cytological Findings of 140 Bile Samples from Dogs and Cats and Associated Clinical Pathological Data. *J Vet Intern Med* 2016;30(1):123-131.
10. Bonczynski JJ, Ludwig LL, Barton LJ, Loar A, Peterson ME. Comparison of peritoneal fluid and peripheral blood pH, bicarbonate, glucose, and lactate

concentration as a diagnostic tool for septic peritonitis in dogs and cats. *Vet Surg* 2003;32(2):161-166.

11. Proot JL, de Vicente F, Sheahan DE. Analysis of lactate concentrations in canine synovial fluid. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2015;28(5):301-305.

12. Friedrichs KR, Harr KE, Freeman KP, Szladovits B, Walton RM, Barnhart KF, et al. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Vet Clin Pathol* 2012;41(4):441-453.

13. Geffre A, Concordet D, Braun JP, Trumel C. Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Vet Clin Pathol* 2011;40(1):107-112.

14. Bruton A, Conway JH, Holgate ST. Reliability: What is it and how is it measured? *Physiotherapy* 2000;86(2):94-99.

15. Minchinela J, Ricós C, Perich C, Fernández-Calle P, Alvarez V, Domenech M, et al. Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from intra- and inter-individual biologic variation. 2014.

16. Leino A, Kurvinen K. Interchangeability of blood gas, electrolyte and metabolite results measured with point-of-care, blood gas and core laboratory analyzers. *Clin Chem Lab Med* 2011;49(7):1187-1191.

17. West E, Bardell D, Senior JM. Comparison of the EPOC and i-STAT analysers for canine blood gas and electrolyte analysis. *J Small Anim Pract* 2014;55(3):139-144.

18. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1(8476):307-310.

19. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochem Med (Zagreb)* 2015;25(2):141-151.

20. Jensen AL, Kjelgaard-Hansen M. Method comparison in the clinical laboratory. *Vet Clin Pathol* 2006;35(3):276-286.

21. Harr KE, Flatland B, Nabity M, Freeman KP, Asvcp. ASVCP guidelines: allowable total error guidelines for biochemistry. *Vet Clin Pathol* 2013;42(4):424-436.

22. Braun JP, Concordet D, Geffre A, Bourges Abella N, Trumel C. Confidence intervals of reference limits in small reference sample groups. *Vet Clin Pathol* 2013;42(3):395-398.

23. Rosenstein PG, Tennent-Brown BS, Hughes D. Clinical use of plasma lactate concentration. Part 1: Physiology, pathophysiology, and measurement. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2018;28(2):85-105.
24. Olson JR, Fujimoto JM. Demonstration of a D-glucose transport system in the biliary tree of the rat by use of the segmented retrograde intrabiliary injection technique. *Biochem Pharmacol* 1980;29(2):213-219.
25. Lazaridis KN, Pham L, Vroman B, de Groen PC, LaRusso NF. Kinetic and molecular identification of sodium-dependent glucose transporter in normal rat cholangiocytes. *Am J Physiol* 1997;272(5 Pt 1):G1168-1174.
26. Guzelian P, Boyer JL. Glucose reabsorption from bile. Evidence for a biliohepatic circulation. *J Clin Invest* 1974;53(2):526-535.
27. Nilsson B, Radberg G, Friman S, Thune A, Svanvik J. In vivo regulation of mucosal transport of H<sup>+</sup> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> in the feline gall bladder. *Acta Physiol Scand* 1993;148(4):403-411.
28. Nilsson B, Delbro D, Friman S, Thune A, Svanvik J. Sympathetic and VIP-ergic control of calcium and bicarbonate transport in the feline gall bladder mucosa in vivo. *J Auton Nerv Syst* 1996;60(1-2):49-55.
29. Kakimoto T, Kanemoto H, Fukushima K, Ohno K, Tsujimoto H. Effect of a high-fat–high-cholesterol diet on gallbladder bile acid composition and gallbladder motility in dogs. *Am J Vet Res* 2017;78(12):1406-1413.
30. Nilsson B, Friman S, Thune A, Jivegard L, Svanvik J. Inflammation reduces mucosal secretion of hydrogen ions and impairs concentrating function and luminal acidification in feline gallbladder. *Scand J Gastroenterol* 1995;30(10):1021-1026.
31. Barrett KE. Gallbladder Function. In: Weitz M, ed. *Gastrointestinal Physiology*. 2nd ed. New York, United States: McGraw-Hill Education; 2013.
32. Afifi F, Peignoux M, Auclair C. Modifications of bile secretion and liver microsomal enzymes by aldosterone and spironolactone. *Hepatogastroenterology* 1980;27(1):9-16.
33. Afifi F, Peignoux M, Auclair C. Effect of chronic administration of aldosterone on bile secretion, on liver cytochrome P-450, and on red blood cell sodium content. *Tohoku J Exp Med* 1979;129(3):241-247.



34. Sung JY, Olson ME, W. LJ, Lundberg MS, Costerton JW. The Sphincter of Oddi is a Boundary for Bacterial Colonisation in the Feline Biliary Tract. *Microbial Ecology in Health and Disease* 1990;3:199-207.
35. Sung JY, Leung JW, Olson ME, Lundberg MS, Costerton JW. Demonstration of transient bacterobilia by foreign body implantation in feline biliary tract. *Dig Dis Sci* 1991;36(7):943-948.

Analytes	Units	N	Mean	Med	SD	Min	Max	RV	Lower 90% CI <sup>a</sup>	Upper 90% CI <sup>a</sup>	Method	Distribution
pH	-	21	7.52	7.56	0.32	6.96	8.05	6.84-8.19	6.65-7.07	7.98-8.41	P	G
PCO <sub>2</sub>	mmHg	21	-	18.5	7.25	11.0	37.1	3.3-33.6	-2.2-8.7	27.0-38.9	R	NG
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mmol/L	21	18.9	17.0	11.7	4.8	47.9	-6.1-43.9	-13.2-2.1	36.1-52.0	P	G
BE	mmol/L	21	-4.1	-7.0	15.9	26.0	30.0	-38.1-29.8	-47.7 to -26.9	19.2-40.8	P	G
Na	mmol/L	20	114	114	7	104	129	100-128	96-105	124-133	P	G
K	mmol/L	20	4.3	4.4	0.3	3.7	4.9	3.7-5.0	3.5-3.9	4.8-5.2	P	G
BUN	mmol/L	20	15	15	3	8	21	8-21	7-11	19-23	P	G

Gaussian(G), Maximum (Max), Median (MED), Minimum (Min), Non-Gaussian (NG), Parametric (P), Robust (R), Standard deviation (SD).

<sup>a</sup>90% CIs of the lower and upper limits of the Reference values

Table 8: Reference values for bile in healthy cats as performed by the i-STAT.

RVs were established and CIs around the upper and lower reference limits were calculated following guidelines from the American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP). (Unpublished)

# Discussion

Les cholangites sont des maladies fréquentes chez le chat mais, à ce jour, les connaissances dont nous disposons reposent sur un nombre restreint de publications, la plupart rétrospectives. Ainsi, de nombreuses incertitudes persistent notamment pour la prise en charge médicale. Comme nous l'avons vu, il existe trois formes de cholangite ayant un traitement différent ce qui met en exergue l'importance d'obtenir un diagnostic de certitude.

Considérant que seule la cholangite neutrophilique nécessite la mise en place d'un traitement antibiotique et qu'un délai de quelques jours avant obtention des résultats de cytologie et de culture de bile conduit parfois à l'instauration erronée d'un traitement antibiotique, nous avons jugé pertinent de rechercher des marqueurs prédictifs d'infection bactérienne biliaire utilisables en clinique chez le chat. Pour ce faire, nous avons étudié tout d'abord la composition de la bile chez les chats en santé, puis comparé ces résultats à la composition de la bile chez les chats atteints de cholangite.

Dans cette partie, nous discuterons essentiellement de la composition de la bile des chats en santé, la discussion sur la comparaison de la composition de la bile entre les chats sains et malades ayant été abordée dans l'article.

Dans notre étude, nous avons pu définir des valeurs de références pour plusieurs paramètres biochimiques dans la bile de la vésicule biliaire en utilisant des appareils de mesure au chevet du patient. Ces intervalles de référence sont le reflet de la composition de la bile stockée dans la vésicule biliaire mais pas de la composition de la bile hépatique puisque l'épithélium de la vésicule biliaire permet l'échange de plusieurs molécules (208, 209). À notre connaissance, aucune étude n'a été préalablement réalisée pour définir ces intervalles de référence avec des appareils à gaz sanguins et dans des conditions physiologiques. Aucune comparaison ne peut donc être directement réalisée entre nos résultats et ceux obtenus dans ces études. En effet, les études présentées dans ce manuscrit concernent la composition biochimique de la bile chez le chat obtenue grâce à un système de contournement de la vésicule biliaire. Des canules étaient implantées dans la vésicule biliaire et diverses solutions électrolytiques étaient ensuite perfusées puis récoltées pour analyse (Figure 10). Les changements de composition de cette solution étaient utilisés pour définir la

composition de la bile. Il est probable que ce système de contournement ait modifié la composition de la bile d'une part par l'inflammation qu'il créait et d'autre part par le fait que la solution infusée pouvait modifier les échanges hydro-électrolytiques naturels. Ces études étaient d'ailleurs réalisées sur un nombre de chats insuffisants pour définir des valeurs de référence telle que définies aujourd'hui par l'ASVCP (194). Nous n'avons pas réalisé ce système de contournement dans notre étude chez les chats sains car l'objectif était d'obtenir des valeurs de référence dans la bile telle que nous l'obtenons en clinique sur les chats malades à savoir par cholécystocentèse.

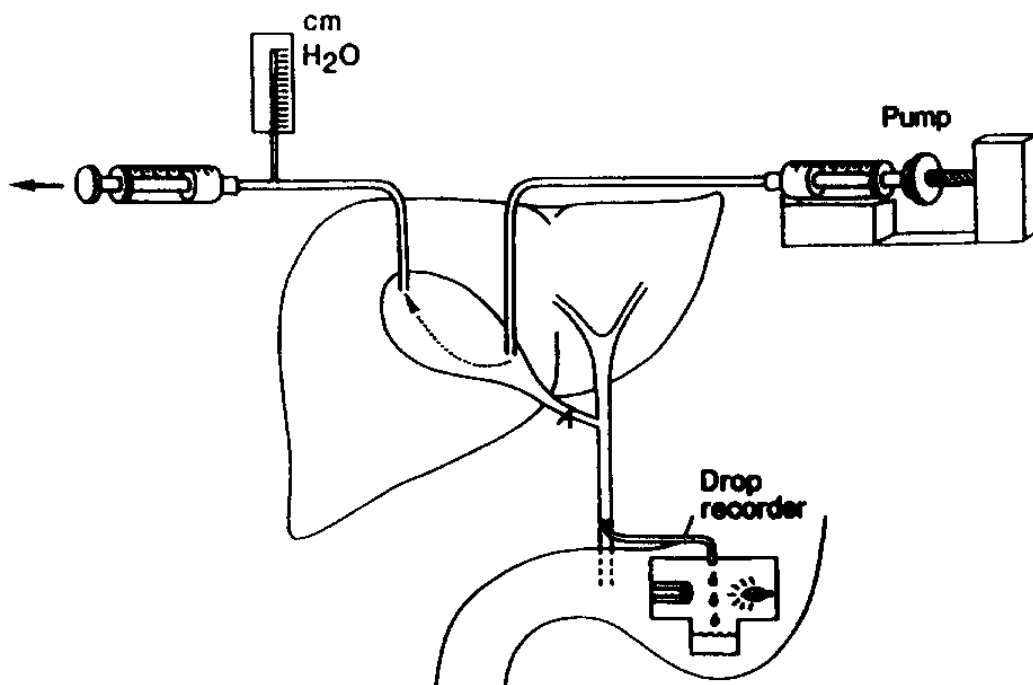


Figure 10: Schéma indiquant le montage permettant une analyse de la bile *in vivo*. Reprinted from Journal of the Autonomic Nervous System, 60, Issues 1–2, 27 August 1996, Bengt Nilsson, Dick Delbro, Styrbjörn Friman, Anders Thune, Joar Svanvik, Sympathetic and VIP-ergic control of calcium and bicarbonate transport in the feline gall bladder mucosa *in vivo*, Pages 49-55., Copyright (2019), with permission from Elsevier.

Puisque nos résultats ne peuvent ainsi être comparés à des études vétérinaires, nous nous sommes intéressés aux données de la littérature humaine. Une étude s'est

intéressée à la composition de la bile chez l'humain obtenue dans les mêmes conditions que notre étude (Tableau 9) (210).

	Mean ± SE	Range
<b>Electrolytes</b>		
Sodium (mmol/L)	186.4 ± 3.4	(123–280)
Potassium (mmol/L)	10.3 ± 0.4	(5.0–18.8)
Free Ca <sup>2+</sup> ion (mmol/L)	1.14 ± 0.04	(0.53–1.98)
Chloride (mmol/L)	63.8 ± 2.8	(11.2–116.6)
Bicarbonate (mmol/L)	18.2 ± 0.8	(5.3–32.4)
Carbonate (mmol/L)	0.056 ± 0.005	(0.003–0.155)
Osmolality (mOsm/kg)	280.4 ± 1.4	(250–303)
<b>pH and Pco<sub>2</sub></b>		
pH	7.180 ± 0.026	(6.530–7.508)
Pco <sub>2</sub> (mm Hg)	47.1 ± 1.2	(29.1–76.8)
<b>Lipids</b>		
Cholesterol (mg/mL)	7.2 ± 0.4	(1.4–16.8)
PL (mg/mL)	30.3 ± 1.9	(7.3–92.9)
BS (mmol/L)	109.4 ± 6.8	(15.1–272.8)
TL (g/dL)	9.1 ± 0.5	(1.8–21.4)
<b>Solubility</b>		
Cholesterol SI	1.72 ± 0.08	(0.64–3.96)
CaCO <sub>3</sub> SI	1.46 ± 0.10	(0.12–3.62)

Tableau 9: Composition de la bile dans la vésicule biliaire chez l'humain.

Reprinted from Gastroenterology, Volume 99, Issue 5, November 1990, Mitchell L.Shiffman, Harvey J.Sugerman, Edward W.Moore, Human gallbladder mucosal function: Effect of concentration and acidification of bile on cholesterol and calcium solubility, Pages 1452-1459., Copyright (2019), with permission from Elsevier.

Nous avons pu mettre en évidence dans notre étude qu'après un jeûne de 12h minimum, le pH de la bile dans la vésicule biliaire des chats est basique (7,64 +/- 0,24). Comparé à la bile vésiculaire humaine, le pH de la bile des chats est plus basique. Une des hypothèses pour expliquer cette divergence est la différence de composition en acides biliaires. Il a été démontré chez l'humain que le pH biliaire est inversement proportionnel à la concentration en acides biliaires et au temps de jeûne, indiquant une influence des acides biliaires sur le pH (210). Puisque certains acides biliaires sont des acides forts et d'autres des acides faibles (211), il est possible que la concentration en

acides biliaires forts soit plus élevée chez l'humain que chez le chat. De plus, une différence de temps de jeûne avant l'échantillonnage pourrait avoir contribué à la divergence des observations. Une autre possibilité pour expliquer cette différence de pH est la  $PCO_2$  qui est plus élevée chez l'humain comparée à celle du chat  $16,8 \pm 7,3$  mmHg alors que la concentration en bicarbonate est comparable entre les deux espèces.

Dans une étude, la concentration en  $HCO_3^-$  s'étendait de 102,3 et 103,7 mmol/L dans la bile hépatique alors qu'elle était entre 2,5 et 2,8 mmol/L dans la vésicule biliaire. La diminution de concentration en  $HCO_3^-$  entre la bile hépatique et la bile de la vésicule biliaire est probablement secondaire à la sécrétion de  $H^+$  qui neutralise le  $HCO_3^-$  pour former du  $CO_2$  lequel diffuse à travers l'épithélium de la vésicule biliaire (25, 26). Dans notre étude, la concentration en  $HCO_3^-$  dans la vésicule biliaire était en moyenne de 18,4 mmol/L. Parmi les hypothèses pour expliquer cette concentration plus élevée se trouvent un temps de jeûne différent, des appareils de mesure différents, une variation dans la sécrétion de VIP et sécrétine ou encore une nourriture différente (17, 25, 26, 54).

Comme chez l'humain, le sodium est le cation majoritaire de la bile du chat. Chez l'humain, la concentration en cations dans la bile excède celle du sérum (211). Nous n'avons pas fait cette observation chez les chats en santé. Cette différence pourrait notamment s'expliquer par un temps de jeûne différent et une vitesse de réabsorption du sodium différente puisque cette dernière est au moins influencée par le VIP et la sécrétine (17, 25, 26, 30).

Chez l'humain, les pompes membranaires qui permettent la concentration de la bile ont été étudiées (Figure 11). Il existe un échangeur sodium/hydrogène (NHE) situé à la membrane apicale de l'épithélium biliaire. Il permet l'excrétion d'hydrogène en provenance du sang ou du cytoplasme en échange de la réabsorption du sodium de la bile. La force qui dirige cet échange est la pompe  $Na^+/K^+$  ATPase située à la membrane basolatérale. Le chlore est absorbé en échange de bicarbonate via un échangeur chlore-bicarbonate (AE) et les protons sécrétés dans la bile réagissent avec le bicarbonate pour former du  $CO_2$  lequel est réabsorbé passivement. Enfin, l'eau est

absorbée passivement par voie paracellulaire grâce au gradient créé par le sodium mais aussi par voie transcellulaire grâce aux aquaporines (208, 209). Les aquaporines-1 ont été mises en évidence dans les membranes apicale et basolatérale de plusieurs mammifères (212-214). Chez le rat, la sécrétine augmente la réabsorption d'eau en induisant l'exocytose des aquaporines à la membrane apicale et elle contribue donc à la concentration des acides biliaires alors que chez le chat, elle semble abolir la réabsorption d'eau (30, 32). Il est possible que les mécanismes de réponse à la sécrétine diffèrent chez le chat ou encore que les conclusions des études sur le chat soient affectées par le faible nombre d'animaux dans chacune des études.

Bien que la vésicule biliaire concentre les acides biliaires durant la phase de stockage, la bile demeure isotonique. Ceci est possible par la formation de micelles qui permettent de maintenir une osmolalité constante malgré une augmentation de la concentration en acides biliaires (10, 209). Lorsque les acides biliaires se concentrent dans la bile, il y a une augmentation linéaire de la concentration en sodium, potassium et calcium et une diminution linéaire de la concentration en chlore chez l'humain (210). Ceci n'a pas été démontré chez le chat et notre étude ne permet pas de le vérifier car pour des raisons techniques, les acides biliaires n'ont pas été quantifiés.



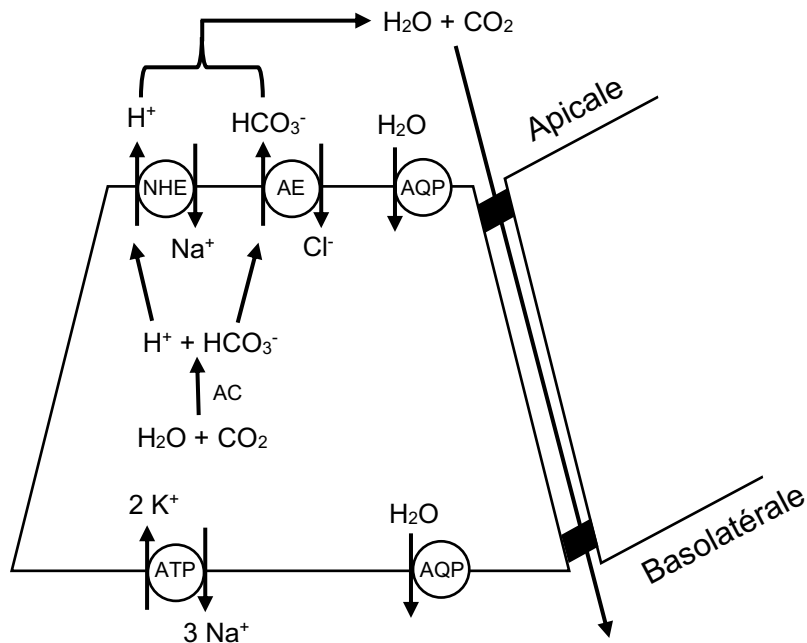


Figure 11: Schéma indiquant les échanges au travers de l'épithélium de la vésicule biliaire.

AC : anhydrase carbonique, AE : échangeur chlore-bicarbonate, AQP : aquaporine, ATP : adénosine triphosphate, NHE : échangeur sodium/hydrogène.

Nous avons mis en évidence que la concentration en glucose dans la vésicule biliaire était sous le seuil de détection des appareils de mesure pour la majorité des chats en santé. Il n'existe pas d'étude chez le chat expliquant le métabolisme du glucose dans l'arbre hépatobiliaire. Chez l'humain et le rat, il a été démontré qu'il n'y avait pas ou peu de glucose dans la bile (215, 216). Le glucose entre par diffusion facilitée dans les hépatocytes via les GLUT (216-218). Il peut ensuite être métabolisé ou diffuser dans la bile mais les mécanismes de diffusion ne sont pas connus. Il a toutefois été proposé que le glucose diffuse passivement dans la bile, comme c'est le cas pour le mannitol dans la bile des cobayes (216, 219). Le glucose contenu dans la bile hépatique peut ensuite être réabsorbé dans les cholangiocytes par un co-transporteur sodium/glucose (SGLT1) situé à leur membrane apicale. Enfin, le glucose peut sortir des cholangiocytes pour retourner dans la circulation sanguine par diffusion facilitée via la

GLUT1 (Figure 12) (220). La présence de ce système de transport dans l'épithélium de la vésicule biliaire n'a pas été démontrée.

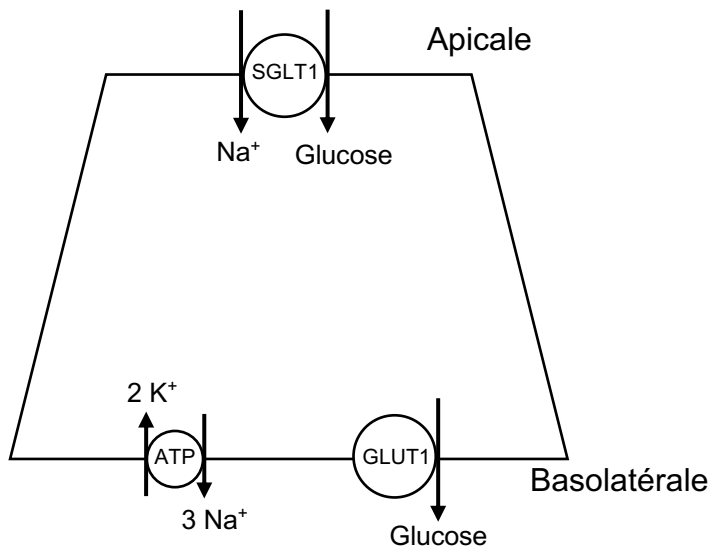


Figure 12: Schéma indiquant les mécanismes de transport du glucose dans les cholangiocytes.

GLUT : Glucose transporter, SGLT : sodium-glucose linked transporter.

Nous avons mis en évidence une concentration en glucose plus élevée chez des chats diabétiques par rapport aux chats en santé. Ceci est compatible avec la présence de mécanismes de transport saturables tels que ceux décrits chez le rat (216, 220) mais leur existence reste à démontrer chez le chat. L'impact de la présence de glucose dans la bile n'est pas connu chez le chat mais il a été démontré que cela peut induire une cholestase chez le rat et le lapin en diminuant le flux biliaire indépendant des acides biliaires (221, 222).

De la bile blanche a été prélevée chez un chat sain et un chat malade non-infecté au cours de notre étude. Chez l'humain, la bile blanche a été décrite chez des individus en santé. Il a en effet été montré que la bile prélevée après une nuit de jeûne était marron-foncée tandis que la bile prélevée 2h après un repas était blanche. Après un repas, la libération de sécrétine et de VIP entraîne une inversion du flux de sodium et entraîne une sécrétion nette d'eau et la formation d'une bile blanche dépourvue de

bilirubine ou d'acides biliaires. Le rôle de cette bile blanche pourrait être de vidanger mécaniquement les résidus contenus dans la vésicule biliaire (223). La bile blanche a également été décrite lors d'obstruction des voies biliaires. Une théorie pour expliquer ce phénomène serait que lorsque la bile stagne, il y a une réabsorption des pigments biliaires, des lipides et des acides biliaires laissant dans les canaux biliaires un fluide transparent (224, 225).

Un rapport de cas fait état d'un chat avec cholestase et cholangite à *Candida albicans* présentant une bile blanche (101). Le temps de jeûne avant la cholécystocentèse n'est pas décrit et il est donc difficile de confirmer si la bile blanche décrite est liée à un processus pathologique ou physiologique. Considérant que le chat sain décrit dans notre étude avait été mis à jeun pendant au minimum 12h avant la cholécystocentèse et qu'il n'avait aucun signe de cholestase à l'échographie, il est possible que d'autres mécanismes soient responsables de la présence de bile blanche dans la vésicule biliaire des chats. Quoiqu'il en soit, l'étiologie de la bile blanche demeure controversée y compris chez l'humain (223, 225).

La concordance entre la description de bactéries à la cytologie et une culture positive peut être inférieure à 50% selon les études (99). Dans notre étude, parmi les chats malades infectés, 1 chat avait des bactéries visibles à la cytologie mais une culture négative, 1 chat avait une culture positive mais pas de bactérie visible à la cytologie et les 3 autres chats avaient à la fois une culture positive et des bactéries visibles à la cytologie. Le taux de concordance était donc de 3 chats sur 5 pour ces deux examens. L'obtention d'une culture positive avec une cytologie dépourvue de bactéries peut s'expliquer par la présence d'un faible nombre de bactéries ou une contamination de l'échantillon. L'observation de bactéries à la cytologie avec une culture négative peut s'expliquer par l'administration d'antibiotiques avant le prélèvement, l'effet bactériostatique de la bile ou la présence de bactéries difficiles à cultiver (91).

Dans notre étude, la concentration en sodium était significativement plus élevée dans le groupe des chats malades infectés par rapport aux chats malades non infectés et était significativement plus élevée dans le groupe des chats malades infectés par rapport aux chats sains. Aucune recherche n'a été menée chez le chat concernant

l'évolution naturelle de la composition de la bile lors de cholécystite bactérienne. Dans les études présentées dans ce manuscrit concernant les cholécystites, l'inflammation de la vésicule biliaire était induite par l'implantation de calculs biliaires humains stériles dans la vésicule biliaire. La présence de bactéries suite à l'implantation n'était pas documentée ce qui rend la comparaison de nos résultats avec ces études impossible. Seule une publication chez l'humain s'est intéressée, entre autres, à l'évolution du sodium lors de cholécystite. Une diminution de la concentration en cations a été observée et en particulier en sodium (211). Toutefois, il n'était pas précisé si les cholécystites étaient d'origine bactérienne ou non ce qui rend la comparaison de ces données avec les nôtres également impossible.

Il est probable que la différence de concentration en sodium entre les chats malades infectés et les chats malades non infectés et les chats sains dans notre étude soit secondaire à une dysfonction de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. Toutefois, la présence de cette pompe n'a pas été démontrée chez le chat et l'influence d'une infection sur celle-ci reste à déterminer.

Aucune différence de concentration en lactate dans la bile n'a été mise en évidence entre les groupes de chats malades infectés ou non dans notre étude. Dans d'autres études, la différence de concentration en lactate entre le sang et l'épanchement investigué était utile pour distinguer un épanchement infecté d'un épanchement non infecté par des bactéries (188, 190). Une étude portant sur la différence de concentration en lactate entre le sang et la bile chez des chats avec ou sans infection bactérienne biliaire pourrait donc s'avérer utile.

# **Conclusion**

Notre projet a dans un premier temps permis d'établir des intervalles de référence pour dix paramètres biochimiques à l'EPOC dans la bile des chats en santé. Cette étude est la première à publier de tels intervalles pour la bile prélevée par cholécystocentèse qui est la principale méthode de collecte utilisée en clinique pour obtenir un échantillon de bile.

Nos résultats et les données issues de la littérature humaine soulèvent de nombreuses questions sur les acteurs impliqués dans la composition de la bile du chat. Par exemple, la vésicule biliaire n'est pas seulement un organe de stockage inerte mais bien un organe métaboliquement actif qui influence la composition de la bile via des transporteurs membranaires méconnus chez le chat. Également, le métabolisme des hépatocytes et le transport de la bile dans les canaux biliaires semblent influencer la composition de la bile. Des études supplémentaires sont nécessaires afin de mieux cerner les mécanismes entrant en jeu dans la composition de la bile chez le chat en santé.

Dans un second temps, notre hypothèse de recherche était que la présence de bactéries dans la bile entraîne une augmentation de la concentration en lactate et une diminution du pH et de la concentration en glucose comparativement à la bile stérile. Cette hypothèse ne s'est pas vérifiée mais seuls 5 chats avec une infection bactérienne biliaire ont pu être recrutés, ce qui limite la portée de cette conclusion.

Une découverte inattendue a été que la concentration en sodium chez les chats atteints de cholangite bactérienne était significativement plus élevée comparativement au chat atteint de cholangite non-infectieuse. D'autres études sont nécessaires afin de confirmer ce changement, expliquer sa pathophysiologie et juger de la pertinence de son utilisation en clinique. Des recherches sur un plus grand nombre de chats malades seraient pertinentes afin d'étudier les deltas de concentration, notamment de glucose et lactate, entre le sang et la bile et afin d'étudier d'autres marqueurs de détection précoce d'infections bactériennes des voies biliaires. À terme, le but est d'améliorer la prise en charge thérapeutique de nos patients et notre utilisation des antibiotiques.

# **Bibliographie**

1. Bayton WA, Westgarth C, Scase T, Price DJ, Bexfield NH. Histopathological frequency of feline hepatobiliary disease in the UK. *J Small Anim Pract* 2018;59(7):404-410.
2. Van den Ingh TS, Cullen JM, Twedt DC, Van Winkle T, Desmet VJ, Rothuizen J. Morphological classification of biliary disorders of the canine and feline liver. In: Elsevier, ed. *WSAVA Standards for Clinical and Histological Diagnosis of Canine and Feline Liver Diseases*. Philadelphia: Saunders Ltd.; 2006:61-76.
3. Cullen JM. Summary of the World Small Animal Veterinary Association standardization committee guide to classification of liver disease in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2009;39(3):395-418.
4. Simpson KW. Pancreatitis and triaditis in cats: causes and treatment. *J Small Anim Pract* 2015;56(1):40-49.
5. Fragkou FC, Adamama-Moraitou KK, Poutahidis T, Prassinou NN, Kritsepi-Konstantinou M, Xenoulis PG, et al. Prevalence and Clinicopathological Features of Triaditis in a Prospective Case Series of Symptomatic and Asymptomatic Cats. *J Vet Intern Med* 2016;30(4):1031-1045.
6. Boland L, Beatty J. Feline Cholangitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017;47(3):703-724.
7. Weese JS, Giguere S, Guardabassi L, Morley PS, Papich M, Ricciuto DR, et al. ACVIM consensus statement on therapeutic antimicrobial use in animals and antimicrobial resistance. *J Vet Intern Med* 2015;29(2):487-498.
8. Proot JL, de Vicente F, Sheahan DE. Analysis of lactate concentrations in canine synovial fluid. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2015;28(5):301-305.
9. Bonczynski JJ, Ludwig LL, Barton LJ, Loar A, Peterson ME. Comparison of peritoneal fluid and peripheral blood pH, bicarbonate, glucose, and lactate concentration as a diagnostic tool for septic peritonitis in dogs and cats. *Vet Surg* 2003;32(2):161-166.
10. Center SA. Diseases of the gallbladder and biliary tree. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2009;39(3):543-598.



11. Etue SM, Penninck DG, Labato MA, Pearson S, Tidwell A. Ultrasonography of the normal feline pancreas and associated anatomic landmarks: a prospective study of 20 cats. *Vet Radiol Ultrasound* 2001;42(4):330-336.
12. Thune A, Friman S, Conradi N, Svanvik J. Functional and morphological relationships between the feline main pancreatic and bile duct sphincters. *Gastroenterology* 1990;98(3):758-765.
13. Jansson R. Effects of intraduodenal acid on gallbladder net water absorption and motility in the cat. *Scand J Gastroenterol* 1978;13(2):209-215.
14. Svanvik J, Jansson R. An experimental method for studying in vivo gallbladder absorption. *Gastroenterology* 1977;72(4 Pt 1):634-638.
15. Jivegard L, Thune A, Svanvik J. Intraluminal prostaglandin E2 affects gallbladder function by activation of intramural nerves in the anaesthetized cat. *Acta Physiol Scand* 1988;132(4):549-555.
16. Esteban FJ, Pedrosa JA, Jimenez A, del Moral ML, Rodrigo J, Peinado MA. Nitrenergic innervation of the cat liver. *Neurosci Lett* 1998;243(1-3):45-48.
17. Nilsson B, Valantinas J, Hedin L, Friman S, Svanvik J. Acetazolamide inhibits stimulated feline liver and gallbladder bicarbonate secretion. *Acta Physiol Scand* 2002;174(2):117-123.
18. Boyer JL. Bile formation and secretion. *Compr Physiol* 2013;3(3):1035-1078.
19. Friman S, Radberg G, Svanvik J. Adrenergic influence on bile secretion--an experimental study in the cat. *Acta Physiol Scand* 1990;140(2):287-293.
20. Hofmann AF, Roda A. Physicochemical properties of bile acids and their relationship to biological properties: an overview of the problem. *J Lipid Res* 1984;25(13):1477-1489.
21. Rabin B, Nicolosi RJ, Hayes KC. Dietary influence on bile acid conjugation in the cat. *J Nutr* 1976;106(9):1241-1246.
22. Taylor W. The bile acid composition of rabbit and cat gall-bladder bile. *J Steroid Biochem* 1977;8(10):1077-1084.
23. Washizu T, Ikenaga H, Washizu M, Ishida T, Tomoda I, Kaneko JJ. Bile acid composition of dog and cat gall-bladder bile. *Nihon Juigaku Zasshi* 1990;52(2):423-425.

24. Smallwood RA, Hoffman NE. Bile acid structure and biliary secretion of cholesterol and phospholipid in the cat. *Gastroenterology* 1976;71(6):1064-1066.
25. Nilsson B, Delbro D, Friman S, Thune A, Svanvik J. Sympathetic and VIP-ergic control of calcium and bicarbonate transport in the feline gall bladder mucosa in vivo. *J Auton Nerv Syst* 1996;60(1-2):49-55.
26. Nilsson B, Radberg G, Friman S, Thune A, Svanvik J. In vivo regulation of mucosal transport of H<sup>+</sup> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> in the feline gall bladder. *Acta Physiol Scand* 1993;148(4):403-411.
27. Renner EL, Lake JR, Scharschmidt BF, Zimmerli B, Meier PJ. Rat hepatocytes exhibit basolateral Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> cotransport. *J Clin Invest* 1989;83(4):1225-1235.
28. Meier PJ, Valantinas J, Hugentobler G, Rahm I. Bicarbonate sulfate exchange in canalicular rat liver plasma membrane vesicles. *Am J Physiol* 1987;253(4 Pt 1):G461-468.
29. Layer P, Hotz J, Sinewe S, Goebell H. Bile secretion in acute and chronic hypercalcemia in the cat. *Dig Dis Sci* 1986;31(2):188-192.
30. Jansson R, Steen G, Svanvik J. A comparison of glucagon, gastric inhibitory peptide, and secretin on gallbladder function, formation of bile, and pancreatic secretion in the cat. *Scand J Gastroenterol* 1978;13(8):919-925.
31. Thune A, Delbro DS, Nilsson B, Friman S, Svanvik J. Role of nitric oxide in motility and secretion of the feline hepatobiliary tract. *Scand J Gastroenterol* 1995;30(7):715-720.
32. Jansson R, Svanvik J. Effects of intravenous secretin and cholecystokinin on gallbladder net water absorption and motility in the cat. *Gastroenterology* 1977;72(4 Pt 1):639-643.
33. Thornell E, Jivegard L, Bukhave K, Rask-Madsen J, Svanvik J. Prostaglandin E<sub>2</sub> formation by the gall bladder in experimental cholecystitis. *Gut* 1986;27(4):370-373.
34. Thomsen OO, Larsen JA, Orskov H. Insulin-induced choleresis in relation to insulin concentrations in plasma and bile in the cat. *Scand J Gastroenterol* 1982;17(2):297-303.

35. Hanssen LE, Hotz J, Hartmann W, Nehls W, Goebell H. Immunoreactive secretin release following taurocholate perfusions of the cat duodenum. *Scand J Gastroenterol* 1980;15(1):89-95.
36. Hartmann W, Hotz J, Ormai S, Aufgebauer J, Schneider F, Goebell H. Stimulation of bile and pancreatic secretion by duodenal perfusion with Na-taurocholate in the cat compared with jejunal and ileal perfusion. *Scand J Gastroenterol* 1980;15(4):433-442.
37. Bjorck S, Svanvik J. The influence of somatostatin on gallbladder response to intraduodenal acid and autonomic nerve stimulation in the cat. *Scand J Gastroenterol* 1984;19(2):173-177.
38. Bjorck S, Jansson R, Svanvik J. Influence of electrical vagal stimulation and acetylcholine on the function of the feline gallbladder. *Scand J Gastroenterol* 1983;18(1):129-135.
39. van Beusekom CD, van den Heuvel JJ, Koenderink JB, Schrickx JA, Russel FG. The feline bile salt export pump: a structural and functional comparison with canine and human Bsep/BSEP. *BMC Vet Res* 2013;9:259.
40. Crema A, Benzi G, Frigo GM, Berte F. The responses of the terminal bile duct to morphine and morphine-like drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1965;149(3):373-378.
41. Benzi G, Berte F, Crema A, Frigo GM. Actions of Sympathomimetic Drugs on the Smooth Muscle at the Junction of the Bile Duct and Duodenum Studied in Situ. *Br J Pharmacol Chemother* 1964;23:101-114.
42. Behar J, Biancani P. Effect of cholecystinin and the octapeptide of cholecystinin on the feline sphincter of Oddi and gallbladder. Mechanisms of action. *J Clin Invest* 1980;66(6):1231-1239.
43. Persson CG. Resistance to flow through the pancreatic duct by the isolated cat sphincter of oddi. *Experientia* 1972;28(3):276-278.
44. Persson CG. Adrenoceptor functions in the cat choledochoduodenal junction in vitro. *Br J Pharmacol* 1971;42(3):447-461.
45. Behar J, Biancani P. Effects and mechanisms of action of motilin on the cat sphincter of Oddi. *Gastroenterology* 1988;95(4):1099-1105.

46. Crema A, Berte F. Action of sympathomimetic drugs on the isolated junction of the bile duct and duodenum. *Br J Pharmacol Chemother* 1963;20:221-229.
47. Kyosola K, Rechart L. Adrenergic innervation of the choledocho-duodenal junction of the cat and the dog. *Histochemie* 1973;34(4):325-332.
48. Hedner P, Rorsman G. On the mechanism of action for the effect of cholecystinin on the choledochoduodenal junction in the cat. *Acta Physiol Scand* 1969;76(1):248-254.
49. Thune A, Jivegard L, Svanvik J. Flow resistance in the feline choledocho-duodenal sphincter as studied by constant-pressure and constant-perfusion techniques. *Acta Physiol Scand* 1989;135(3):279-284.
50. Thune A, Thornell E, Svanvik J. Reflex regulation of flow resistance in the feline sphincter of Oddi by hydrostatic pressure in the biliary tract. *Gastroenterology* 1986;91(6):1364-1369.
51. Nilsson B, Delbro D, Hedin L, Conradi N, Thune A, Friman S, et al. Role of nitric oxide in induction of inflammatory fluid secretion by the mucosa of the feline gallbladder. *Gastroenterology* 1996;110(2):598-606.
52. Nilsson B, Friman S, Thune A, Jivegard L, Svanvik J. Inflammation reduces mucosal secretion of hydrogen ions and impairs concentrating function and luminal acidification in feline gallbladder. *Scand J Gastroenterol* 1995;30(10):1021-1026.
53. Svanvik J, Thornell E, Zettergren L. Gallbladder function in experimental cholecystitis. *Surgery* 1981;89(4):500-506.
54. Bjorck S, Jansson R, Svanvik J. Adrenergic influence on concentrating function in the feline gall bladder. *Gut* 1982;23(12):1019-1023.
55. Berry H, Flower RJ. The assay of endogenous cholecystinin and factors influencing its release in the dog and cat. *Gastroenterology* 1971;60(3):409-420.
56. Pallin B, Skoglund S. Neural and Humoral Control of the Gallbladder-Emptying Mechanism in the Cat. *Acta Physiol Scand* 1964;60:358-362.
57. Dahlstrand C, Bjorck S, Edin R, Dahlstrom A, Ahlman H. Substance P in the control of extrahepatic biliary motility in the cat. *Regul Pept* 1988;20(1):11-24.

58. Baumgarten HG, Lange W. Extrinsic adrenergic innervation of the extrahepatic biliary duct system in guinea-pigs, cats and rhesus monkeys. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1969;100(4):606-615.
59. Nilsson B, Theodorsson E, Jivegard L, Thune A, Friman S, Svanvik J. VIP-antiserum inhibits fluid secretion by the inflamed gallbladder mucosa. *Regul Pept* 1994;49(3):179-184.
60. Nilsson B, Delbro D, Thune A, Friman S, Jivegard L, Svanvik J. VIP-antiserum and indomethacin inhibit calcium and bicarbonate secretion by the inflamed feline gallbladder mucosa. *Acta Physiol Scand* 1996;158(2):203-209.
61. Jivegard L, Radberg G, Wahlin T. An experimental study on the role of gallbladder mucosal fluid secretion and intraluminal pressure in cholecystitis. *Acta Chir Scand* 1986;152:605-610.
62. Jansson R, Steen G, Svanvik J. Effects of intravenous vasoactive intestinal peptide (VIP) on gallbladder function in the cat. *Gastroenterology* 1978;75(1):47-50.
63. Jivegard L, Fahrenkrug J, Svanvik J. Vasoactive intestinal peptide in the normal and inflamed feline gallbladder. *Regul Pept* 1989;25(2):179-185.
64. Thornell E, Svanvik J, Wood JR. Effects of intra-arterial prostaglandin E2 on gallbladder fluid transport, motility, and hepatic bile in the cat. *Scand J Gastroenterol* 1981;16(8):1083-1088.
65. Krarup N, Larsen JA, Munck A. Secretin-like choleric effect of prostaglandins E1 and E2 in cats. *J Physiol* 1976;254(3):813-820.
66. German D, Barcia J, Brems J, Merenda G, Kaminski DL. Effect of bradykinin on feline gallbladder water transport and prostanoid formation. *Dig Dis Sci* 1989;34(11):1770-1776.
67. Neiderhiser D, Thornell E, Bjorck S, Svanvik J. The effect of lysophosphatidylcholine on gallbladder function in the cat. *J Lab Clin Med* 1983;101(5):699-707.
68. Kaminski DL, Deshpande YG, Qualy J, Thomas LA. The role of prostaglandins in feline experimental cholecystitis. *Surgery* 1985;98(4):760-768.
69. Thornell E. Effects of raised intraluminal pressure on gallbladder function and hepatic bile outflow in the cat. *Scand J Gastroenterol* 1981;16(7):873-877.

70. Jivegard L, Thornell E, Svanvik J. Fluid secretion by gallbladder mucosa in experimental cholecystitis is influenced by intramural nerves. *Dig Dis Sci* 1987;32(12):1389-1394.
71. Nilsson B, Delbro D, Hedin L, Friman S, Andius S, Svanvik J. Role of cyclooxygenase-2 for fluid secretion by the inflamed gallbladder mucosa. *J Gastrointest Surg* 1998;2(3):269-277.
72. Jivegard L, Svanvik J. Loperamide inhibits gallbladder inflammatory fluid secretion in experimental cholecystitis. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1986;333(2):178-181.
73. Jivegard L, Thornell E, Bjorck S, Svanvik J. The effects of morphine and enkephaline on gallbladder function in experimental cholecystitis. Inhibition of inflammatory gallbladder secretion. *Scand J Gastroenterol* 1985;20(9):1049-1056.
74. Jivegard L, Svanvik J. The influence of morphine, loperamide and naloxone on gallbladder response to prostaglandin E2 in the anaesthetized cat. *Acta Physiol Scand* 1986;127(3):275-279.
75. Jivegard L, Pollard H, Moreau J, Schwartz JC, Thune A, Svanvik J. Naloxone-reversible inhibition of gall-bladder mucosal fluid secretion in experimental cholecystitis in the cat by acetorphan, an enkephalinase inhibitor. *Clin Sci (Lond)* 1989;77(1):49-54.
76. Kaminski DL, Deshpande YG, Li A, Dysart F, Nag M. Gallbladder mucosal protein secretion during development of experimental cholecystitis. *Dig Dis Sci* 1995;40(5):1157-1164.
77. Callahan Clark JE, Haddad JL, Brown DC, Morgan MJ, Van Winkle TJ, Rondeau MP. Feline cholangitis: a necropsy study of 44 cats (1986-2008). *J Feline Med Surg* 2011;13(8):570-576.
78. Hirsch VM, Doige CE. Suppurative cholangitis in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1983;182(11):1223-1226.
79. Zawie DA, Garvey MS. Feline hepatic disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1984;14(6):1201-1230.
80. Twedt D, Armstrong PJ, Simpson K. Feline Cholangitis. In: Elsevier, ed. *Kirk's Current Veterinary Therapy XV*. St. Louis: Saunders; 2014:614-619.

81. Wagner KA, Hartmann FA, Trepanier LA. Bacterial culture results from liver, gallbladder, or bile in 248 dogs and cats evaluated for hepatobiliary disease: 1998-2003. *J Vet Intern Med* 2007;21(3):417-424.
82. Twedt DC, Cullen J, McCord K, Janeczko S, Dudak J, Simpson K. Evaluation of fluorescence in situ hybridization for the detection of bacteria in feline inflammatory liver disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2014;16(2):109-117.
83. Sung JY, Shaffer EA, Olson ME, Leung JW, Lam K, Costerton JW. Bacterial invasion of the biliary system by way of the portal-venous system. *Hepatology* 1991;14(2):313-317.
84. Greiter-Wilke A, Scanziani E, Soldati S, McDonough SP, McDonough PL, Center SA, et al. Association of Helicobacter with cholangiohepatitis in cats. *J Vet Intern Med* 2006;20(4):822-827.
85. Savary-Bataille KC, Bunch SE, Spaulding KA, Jackson MW, Law JM, Stebbins ME. Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis in healthy cats. *J Vet Intern Med* 2003;17(3):298-303.
86. Otte CM, Gutierrez OP, Favier RP, Rothuizen J, Penning LC. Detection of bacterial DNA in bile of cats with lymphocytic cholangitis. *Vet Microbiol* 2012;156(1-2):217-221.
87. Marolf AJ, Leach L, Gibbons DS, Bachand A, Twedt D. Ultrasonographic findings of feline cholangitis. *J Am Anim Hosp Assoc* 2012;48(1):36-42.
88. Weiss DJ, Armstrong PJ, Gagne J. Inflammatory liver disease. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1997;12(1):22-27.
89. Gagne JM, Armstrong PJ, Weiss DJ, Lund EM, Feeney DA, King VL. Clinical features of inflammatory liver disease in cats: 41 cases (1983-1993). *J Am Vet Med Assoc* 1999;214(4):513-516.
90. Brain PH, Barrs VR, Martin P, Baral R, White JD, Beatty JA. Feline cholecystitis and acute neutrophilic cholangitis: clinical findings, bacterial isolates and response to treatment in six cases. *J Feline Med Surg* 2006;8(2):91-103.
91. Peters LM, Glanemann B, Garden OA, Szladovits B. Cytological Findings of 140 Bile Samples from Dogs and Cats and Associated Clinical Pathological Data. *J Vet Intern Med* 2016;30(1):123-131.

92. Policelli Smith R, Gookin JL, Smolski W, Di Cicco MF, Correa M, Seiler GS. Association between Gallbladder Ultrasound Findings and Bacterial Culture of Bile in 70 Cats and 202 Dogs. *J Vet Intern Med* 2017.
93. Mayhew PD, Holt DE, McLear RC, Washabau RJ. Pathogenesis and outcome of extrahepatic biliary obstruction in cats. *J Small Anim Pract* 2002;43(6):247-253.
94. Hittmair KM, Vielgrader HD, Loupal G. Ultrasonographic evaluation of gallbladder wall thickness in cats. *Vet Radiol Ultrasound* 2001;42(2):149-155.
95. Griffin S. Feline abdominal ultrasonography: what's normal? what's abnormal? The biliary tree. *J Feline Med Surg* 2019;21(5):429-441.
96. Newell SM, Selcer BA, Girard E, Roberts GD, Thompson JP, Harrison JM. Correlations between ultrasonographic findings and specific hepatic diseases in cats: 72 cases (1985-1997). *J Am Vet Med Assoc* 1998;213(1):94-98.
97. Schiborra F, McConnell JF, Maddox TW. Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis: complications and association of ultrasonographic findings with bile culture results. *J Small Anim Pract* 2017;58(7):389-394.
98. Diana A, Guglielmini C, Specchi S, Di Tommaso M, Pietra M, Baron Toaldo M, et al. Ultrasonographic evaluation of preprandial and postprandial gallbladder volume in healthy cats. *Am J Vet Res* 2012;73(10):1583-1588.
99. Byfield VL, Callahan Clark JE, Turek BJ, Bradley CW, Rondeau MP. Percutaneous cholecystocentesis in cats with suspected hepatobiliary disease. *J Feline Med Surg* 2017;19(12):1254-1260.
100. Newton PL, Fry DR. Successful treatment of *Providencia rettgeri* cholecystitis and neutrophilic cholangitis in a cat. *JFMS Open Rep* 2018;4(1):2055116917750763.
101. Palermo SM, Newman AW, Koch MW. *Candida albicans* cholecystitis with associated hepatitis in a cat. *JFMS Open Rep* 2019;5(1):2055116919854165.
102. Gagne JM, Weiss DJ, Armstrong PJ. Histopathologic evaluation of feline inflammatory liver disease. *Vet Pathol* 1996;33(5):521-526.
103. Weiss DJ, Gagne JM, Armstrong PJ. Relationship between inflammatory hepatic disease and inflammatory bowel disease, pancreatitis, and nephritis in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1996;209(6):1114-1116.



104. Shaker EH, Zawie DA, Garvey MS, Gilbertson SR. Suppurative cholangiohepatitis in a cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1991;27:148-150.
105. Pressel MA, Fox LE, Apley MD, Simutis FJ. Vancomycin for multi-drug resistant *Enterococcus faecium* cholangiohepatitis in a cat. *J Feline Med Surg* 2005;7(5):317-321.
106. Jackson MW, Panciera DL, Hartmann F. Administration of vancomycin for treatment of ascending bacterial cholangiohepatitis in a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1994;204(4):602-605.
107. Lisciandro SC, Hohenhaus A, Brooks M. Coagulation abnormalities in 22 cats with naturally occurring liver disease. *J Vet Intern Med* 1998;12(2):71-75.
108. Agnew W, Korman R. Pharmacological appetite stimulation: Rational choices in the inappetent cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2014;16(9):749-756.
109. Gow AG. Hepatic Encephalopathy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017;47(3):585-599.
110. Hickman MA, Cox SR, Mahabir S, Miskell C, Lin J, Bungler A, et al. Safety, pharmacokinetics and use of the novel NK-1 receptor antagonist maropitant (Cerenia) for the prevention of emesis and motion sickness in cats. *J Vet Pharmacol Ther* 2008;31(3):220-229.
111. Batchelor DJ, Devauchelle P, Elliott J, Elwood CM, Freiche V, Gualtieri M, et al. Mechanisms, causes, investigation and management of vomiting disorders in cats: a literature review. *J Feline Med Surg* 2013;15(4):237-265.
112. Trepanier L. Acute vomiting in cats: rational treatment selection. *J Feline Med Surg* 2010;12(3):225-230.
113. Nicholson BT, Center SA, Randolph JF, Rowland PJ, Thompson MB, Yeager AE, et al. Effects of oral ursodeoxycholic acid in healthy cats on clinicopathological parameters, serum bile acids and light microscopic and ultrastructural features of the liver. *Res Vet Sci* 1996;61(3):258-262.
114. Webster CR. Ursodeoxycholic Acid Therapy. In: Bonagura JD, ed. *Kirk's Current Veterinary Therapy XIV*. St. Louis, Missouri: Saunders; 2008:553-565.

115. Webster CR, Cooper J. Therapeutic use of cytoprotective agents in canine and feline hepatobiliary disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2009;39(3):631-652.
116. Center SA, Randolph JF, Warner KL, McCabe-McClelland J, Foureman P, Hoffmann WE, et al. The effects of S-adenosylmethionine on clinical pathology and redox potential in the red blood cell, liver, and bile of clinically normal cats. *J Vet Intern Med* 2005;19(3):303-314.
117. Warren A, Center S, McDonough S, Chiotti R, Goldstein R, Meseck E, et al. Histopathologic features, immunophenotyping, clonality, and eubacterial fluorescence in situ hybridization in cats with lymphocytic cholangitis/cholangiohepatitis. *Vet Pathol* 2011;48(3):627-641.
118. Day MJ. Immunohistochemical characterization of the lesions of feline progressive lymphocytic cholangitis/cholangiohepatitis. *J Comp Pathol* 1998;119(2):135-147.
119. Prasse KW, Mahaffey EA, DeNovo R, Cornelius L. Chronic lymphocytic cholangitis in three cats. *Vet Pathol* 1982;19(2):99-108.
120. Edwards DF, McCracken MD, Richardson DC. Sclerosing cholangitis in a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1983;182(7):710-712.
121. Boomkens SY, de Rave S, Pot RG, Egberink HF, Penning LC, Rothuizen J, et al. The role of *Helicobacter* spp. in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005;44(2):221-225.
122. Otte CM, Penning LC, Rothuizen J, Favier RP. Retrospective comparison of prednisolone and ursodeoxycholic acid for the treatment of feline lymphocytic cholangitis. *Vet J* 2013;195(2):205-209.
123. Lucke VM, Davies JD. Progressive lymphocytic cholangitis in the cat. *Journal of small animal practice* 1984(25):249-260.
124. Hirose N, Uchida K, Kanemoto H, Ohno K, Chambers JK, Nakayama H. A retrospective histopathological survey on canine and feline liver diseases at the University of Tokyo between 2006 and 2012. *J Vet Med Sci* 2014;76(7):1015-1020.
125. Weiss DJ, Gagne JM, Armstrong PJ. Characterization of portal lymphocytic infiltrates in feline liver. *Vet Clin Pathol* 1995;24(3):91-95.

126. Nakayama H, Uchida K, Lee SK, Uetsuka K, Hasegawa A, Goto N. Three cases of feline sclerosing lymphocytic cholangitis. *J Vet Med Sci* 1992;54(4):769-771.
127. Otte CM, Rothuizen J, Favier RP, Penning LC, Vreman S. A morphological and immunohistochemical study of the effects of prednisolone or ursodeoxycholic acid on liver histology in feline lymphocytic cholangitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2014;16(10):796-804.
128. Maggs JR, Chapman RW. Sclerosing cholangitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2007;23(3):310-316.
129. King S, Scholz T. Trematodes of the family Opisthorchiidae: a minireview. *Korean J Parasitol* 2001;39(3):209-221.
130. Basu AK, Charles RA. A review of the cat liver fluke *Platynosomum fastosum* Kossack, 1910 (Trematoda: Dicrocoeliidae). *Vet Parasitol* 2014;200(1-2):1-7.
131. Pinto HA, Mati VL, de Melo AL. New insights into the life cycle of *Platynosomum* (Trematoda: Dicrocoeliidae). *Parasitol Res* 2014;113(7):2701-2707.
132. Ramos DG, Scheremeta RG, Oliveira AC, Sinkoc AL, Pacheco Rde C. Survey of helminth parasites of cats from the metropolitan area of Cuiaba, Mato Grosso, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2013;22(2):201-206.
133. Braga RR, Teixeira AC, Oliveira JA, Cavalcanti LP. Prevalence of *Platynosomum fastosum* infection in free roaming cats in northeastern Brazil: Fluke burden and grading of lesions. *Vet Parasitol* 2016;227:20-25.
134. Krecek R, Moura L, Lucas H, Kelly P. Parasites of stray cats (*Felis domesticus* L, 1758) on St Kitts, West Indies. *Veterinary Parasitology* 2010;172(1-2):147-149.
135. Ramos DG, Santos AR, Freitas LD, Braga IA, Silva EP, Soares LM, et al. Feline platynosomiasis: analysis of the association of infection levels with pathological and biochemical findings. *Rev Bras Parasitol Vet* 2017;26(1):54-59.
136. Salomão MC, De Souza-Dantas LM, Mendes-de-Almeida F, Branco AS, Bastos OPM, De Almeida Serman F, et al. Evaluation of Domestic Cats ( *Felis catus* , L . , 1758 ) Infected by *Platynosomum Looss* , 1907. *Intern J Appl Res Vet Med* 2005;3(3):271-279.

137. Haney DR, Christiansen JS, Toll J. Severe cholestatic liver disease secondary to liver fluke (*Platynosomum concinnum*) infection in three cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 2006;42(3):234-237.
138. Taylor D, Perri SF. Experimental infection of cats with the liver fluke *Platynosomum concinnum*. *Am J Vet Res* 1977;38(1):51-54.
139. Bielsa L, Gteiner E. Liver flukes (*Platynosomum concinnum*) in cats. *JAAHA* 1985(21):269-274.
140. Zamri Saad M, Chulan U, Wong WT. *Platynosomum Fastosum* Infestation in a Cat: A Case Report. *Pertanika* 1984;7(1):87-89.
141. Carreira VS, Vieira RF, Machado GF, Luvizotto MC. Feline cholangitis/chonlangiohepatitis complex secondary to *Platynosomum fastosum* infection in a cat. *Rev Bras Parasitol Vet* 2008;17 Suppl 1:184-187.
142. Daniel A, Diaz R, Camignatto L, Kage N, Pellegrino A, Cogliati B. Polycystic liver disease associated with *Platynosomum fastosum* infection in a cat. *Journal of Veterinary Pathology* 2012;5(3):137-141.
143. Headley S, Ferioli R, Reis A, Bracarense A. *Platynosomum fastosum*-induced Infections in Domestic Shorthair Cats: a Retrospective Study of Seven Cases. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology* 2011;4(3):227-234.
144. Kim J, Che J, Jeong D, Khang B. *Platynosomum fastosum* Infestation in a Domestic Cat in Korea. *Lab Anim Res* 2010;26(3):307-309.
145. Montserin S, Munos K, Seebaransingh R, Basu AK. Clinical case: *Platynosomum fastosum* Kossack, 1910 infection in a cat: First reported case in Trinidad and Tobago. *Revue Méd Vét* 2013;164(1):9-12.
146. Xavier FG, Morato GS, Righi DA, Maiorka PC, Spinosa HS. Cystic liver disease related to high *Platynosomum fastosum* infection in a domestic cat. *J Feline Med Surg* 2007;9(1):51-55.
147. Foley R. *Platynosomum concinnum* infection in cats. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1994;16(10):1271-1277.
148. Barriga OO, Caputo CA, Weisbrode SE. Liver flukes (*Platynosomum concinnum*) in an Ohio cat. *J Am Vet Med Assoc* 1981;179(9):901-903.

149. Koster LS, Shell L, Ketzis J, Rajeev S, Illanes O. Diagnosis of pancreatic disease in feline platynosomosis. *J Feline Med Surg* 2017;19(12):1192-1198.
150. Koster L, Shell L, Illanes O, Lathroum C, Neuville K, Ketzis J. Percutaneous Ultrasound-guided Cholecystocentesis and Bile Analysis for the Detection of *Platynosomum* spp.-Induced Cholangitis in Cats. *J Vet Intern Med* 2016;30(3):787-793.
151. Ramos RA, Lima VF, Monteiro MF, Santana Mde A, Lepold R, Faustino MA, et al. New insights into diagnosis of *Platynosomum fastosum* (Trematoda: Dicrocoeliidae) in cats. *Parasitol Res* 2016;115(2):479-482.
152. Rocha NO, Portela RW, Camargo SS, Souza WR, Carvalho GC, Bahiense TC. Comparison of two coproparasitological techniques for the detection of *Platynosomum* sp. infection in cats. *Vet Parasitol* 2014;204(3-4):392-395.
153. Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, Utzinger J. FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nat Protoc* 2010;5(3):503-515.
154. Palumbo NE, Taylor D, Perri SF. Evaluation of fecal technics for the diagnosis of cat liver fluke infection. *Lab Anim Sci* 1976;26(3):490-493.
155. Retnasabapathy A, Prathap K. The liver-fluke *Platynosomum fastosum* in domestic cats. *Vet Rec* 1971;88(3):62-65.
156. Headley SA, Gillen MA, Sanches AW, Satti MZ. *Platynosomum fastosum*-induced chronic intrahepatic cholangitis and *Spirometra* spp. infections in feral cats from Grand Cayman. *J Helminthol* 2012;86(2):209-214.
157. Ikede BO, Losos GJ, Isoun TT. *Platynosomum concinnum* infection in cats in Nigeria. *Vet Rec* 1971;89(24):635-638.
158. Powell KW. Liver fluke infection in a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1970;156(2):218.
159. Andrade RL, Dantas AF, Pimentel LA, Galiza GJ, Carvalho FK, Costa VM, et al. *Platynosomum fastosum*-induced cholangiocarcinomas in cats. *Vet Parasitol* 2012;190(1-2):277-280.
160. Shell L, Ketzis J, Hall R, Rawlins G, du Plessis W. Praziquantel treatment for *Platynosomum* species infection of a domestic cat on St Kitts, West Indies. *JFMS Open Rep* 2015;1(1):2055116915589834.

161. Anh NT, Madsen H, Thanh DT, Dalsgaard A, Murrell KD. Field trial of praziquantel for control of fishborne zoonotic trematodes in reservoir hosts in Vietnam. *Vet Parasitol* 2010;174(3-4):348-350.
162. Lathroum CN, Shell L, Neuville K, Ketzis JK. Efficacy of Praziquantel in the Treatment of *Platynosomum fastosum* in Cats with Natural Infections. *Vet Sci* 2018;5(2).
163. Sereerak P, Upontain S, Tangkawattana P, Mallory FF, Sripa B, Tangkawattana S. Efficacious and safe dose of praziquantel for the successful treatment of feline reservoir hosts with opisthorchiasis. *Parasitol Int* 2017;66(4):448-452.
164. Lin RQ, Tang JD, Zhou DH, Song HQ, Huang SY, Chen JX, et al. Prevalence of *Clonorchis sinensis* infection in dogs and cats in subtropical southern China. *Parasit Vectors* 2011;4:180.
165. Enes JE, Wages AJ, Malone JB, Tesana S. Prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in the canine and feline hosts in three villages, Khon Kaen Province, northeastern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2010;41(1):36-42.
166. Aunpromma S, Tangkawattana P, Papirom P, Kanjampa P, Tesana S, Sripa B, et al. High prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in reservoir hosts in four districts of Khon Kaen Province, an opisthorchiasis endemic area of Thailand. *Parasitol Int* 2012;61(1):60-64.
167. Calvopina M, Cevallos W, Atherton R, Saunders M, Small A, Kumazawa H, et al. High prevalence of the liver fluke *Amphimerus* sp. in domestic cats and dogs in an area for human amphimeriasis in Ecuador. *PLoS Negl Trop Dis* 2015;9(2):e0003526.
168. Watson TG, Croll NA. Clinical changes caused by the liver fluke *Metorchis conjunctus* in cats. *Vet Pathol* 1981;18(6):778-785.
169. Lewis D, Malone J, Taboada J, Hribernik TN, Pechman R, Dean P. Cholangiohepatitis and choledochectasia associated with *Amphimerus pseudofelineus* in a cat. *JAAHA* 1991;27:156-162.
170. Chang HP. Pathological Changes in the Intrahepatic Bile Ducts of Cats (*Felis Catus*) Infested with *Clonorchis Sinensis*. *J Pathol Bacteriol* 1965;89:357-364.

171. Mills JH, Hirth RS. Lesions caused by the hepatic trematode, *Metorchis conjunctus*, Cobbold, 1860. A comparative study in carnivora. *J Small Anim Pract* 1968;9(1):1-6.
172. Hou PC. Primary Carcinoma of Bile Duct of the Liver of the Cat (*Felis Catus*) Infested with *Clonorchis Sinensis*. *J Pathol Bacteriol* 1964;87:239-244.
173. Rosenstein PG, Tennent-Brown BS, Hughes D. Clinical use of plasma lactate concentration. Part 1: Physiology, pathophysiology, and measurement. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2018;28(2):85-105.
174. Omole OO, Nappert G, Naylor JM, Zello GA. Both L- and D-lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves. *J Nutr* 2001;131(8):2128-2131.
175. Brook I. The importance of lactic acid levels in body fluids in the detection of bacterial infections. *Rev Infect Dis* 1981;3(3):470-478.
176. Haji-Michael PG, Ladriere L, Sener A, Vincent JL, Malaisse WJ. Leukocyte glycolysis and lactate output in animal sepsis and ex vivo human blood. *Metabolism* 1999;48(6):779-785.
177. Karnovsky ML. Metabolic basis of phagocytic activity. *Physiol Rev* 1962;42:143-168.
178. Chaffin M, Carter G, Relford R. Equine bacterial pleuropneumonia. Part II. Clinical signs and diagnostic evaluation. *Comp cont Educ pract Vet* 1994;16(3):362-379.
179. Brumbaugh GW, Benson PA. Partial pressures of oxygen and carbon dioxide, pH, and concentrations of bicarbonate, lactate, and glucose in pleural fluid from horses. *Am J Vet Res* 1990;51(7):1032-1037.
180. Watson MA, Scott MG. Clinical utility of biochemical analysis of cerebrospinal fluid. *Clin Chem* 1995;41(3):343-360.
181. Pang DS, Boysen S. Lactate in veterinary critical care: pathophysiology and management. *J Am Anim Hosp Assoc* 2007;43(5):270-279.
182. Christopher MM, Broussard JD, Fallin CW, Drost NJ, Peterson ME. Increased serum D-lactate associated with diabetic ketoacidosis. *Metabolism* 1995;44(3):287-290.

183. Packer RA, Cohn LA, Wohlstadter DR, Shelton GD, Naylor JM, Zello GA, et al. D-lactic acidosis secondary to exocrine pancreatic insufficiency in a cat. *J Vet Intern Med* 2005;19(1):106-110.
184. Allen S, Holm J. Lactate: physiology and clinical utility. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2008;18(2):123-132.
185. Yang CY, Liaw YF, Chu CM, Sheen IS. White count, pH and lactate in ascites in the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1985;5(1):85-90.
186. Falchuk KH, Goetzl EJ, Kulka JP. Respiratory gases of synovial fluids. An approach to synovial tissue circulatory-metabolic imbalance in rheumatoid arthritis. *Am J Med* 1970;49(2):223-231.
187. Treuhaft PS, DJ MC. Synovial fluid pH, lactate, oxygen and carbon dioxide partial pressure in various joint diseases. *Arthritis Rheum* 1971;14(4):475-484.
188. Koenig A, Verlander LL. Usefulness of whole blood, plasma, peritoneal fluid, and peritoneal fluid supernatant glucose concentrations obtained by a veterinary point-of-care glucometer to identify septic peritonitis in dogs with peritoneal effusion. *J Am Vet Med Assoc* 2015;247(9):1027-1032.
189. Swann H, Hughes D. Use of abdominal fluid pH, pO<sub>2</sub>, (glucose), and (lactate) to differentiate bacterial peritonitis from non-bacterial causes of abdominal effusion in dogs and cats. *Proceedings, International Veterinary Emergency and Critical Care Society, San Antonio* 1996:884.
190. Levin GM, Bonczynski JJ, Ludwig LL, Barton LJ, Loar AS. Lactate as a diagnostic test for septic peritoneal effusions in dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004;40(5):364-371.
191. de Oliveira El-Warrak A, Rouma M, Amoroso A, Boysen SR, Chorfi Y. Measurement of vitamin A, vitamin E, selenium, and L-lactate in dogs with and without osteoarthritis secondary to ruptured cranial cruciate ligament. *Can Vet J* 2012;53(12):1285-1288.
192. Sakushima K, Hayashino Y, Kawaguchi T, Jackson JL, Fukuhara S. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid lactate for differentiating bacterial meningitis from aseptic meningitis: a meta-analysis. *J Infect* 2011;62(4):255-262.



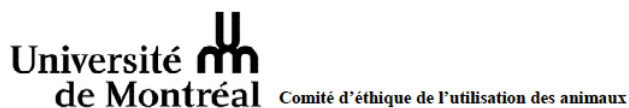
193. Brook I, Belman AB, Controni G. Lactic acid in urine of children with lower and upper urinary tract infection and renal obstruction. *Am J Clin Pathol* 1981;75(1):110-113.
194. Friedrichs KR, Harr KE, Freeman KP, Szlodovits B, Walton RM, Barnhart KF, et al. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Vet Clin Pathol* 2012;41(4):441-453.
195. Geffre A, Concordet D, Braun JP, Trumel C. Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Vet Clin Pathol* 2011;40(1):107-112.
196. Braun JP, Concordet D, Geffre A, Bourges Abella N, Trumel C. Confidence intervals of reference limits in small reference sample groups. *Vet Clin Pathol* 2013;42(3):395-398.
197. Jensen AL, Kjelgaard-Hansen M. Method comparison in the clinical laboratory. *Vet Clin Pathol* 2006;35(3):276-286.
198. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1(8476):307-310.
199. Altman DG, Bland JM. Measurement in Medicine: the Analysis of Method Comparison Studies. *The Statistician* 1983(32):307-317.
200. Stockl D, Dewitte K, Thienpont LM. Validity of linear regression in method comparison studies: is it limited by the statistical model or the quality of the analytical input data? *Clin Chem* 1998;44(11):2340-2346.
201. Linnet K. Evaluation of regression procedures for methods comparison studies. *Clin Chem* 1993;39(3):424-432.
202. Passing H, Bablok. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21(11):709-720.
203. Leino A, Kurvinen K. Interchangeability of blood gas, electrolyte and metabolite results measured with point-of-care, blood gas and core laboratory analyzers. *Clin Chem Lab Med* 2011;49(7):1187-1191.

204. West E, Bardell D, Senior JM. Comparison of the EPOC and i-STAT analysers for canine blood gas and electrolyte analysis. *J Small Anim Pract* 2014;55(3):139-144.
205. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochem Med (Zagreb)* 2015;25(2):141-151.
206. Jensen AL, Bantz M. Comparing laboratory tests using the difference plot method. *Vet Clin Pathol* 1993;22(2):46-48.
207. Petersen PH, Stockl D, Blaabjerg O, Pedersen B, Birkemose E, Thienpont L, et al. Graphical interpretation of analytical data from comparison of a field method with reference method by use of difference plots. *Clin Chem* 1997;43(11):2039-2046.
208. Lee SP, Kuver R. Gallbladder function. In: Johnson LR, ed. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 4th ed. Burlington: Academic Press; 2006:1535-1557.
209. Barrett KE. Gallbladder Function. In: Weitz M, ed. *Gastrointestinal Physiology*. 2nd ed. New York, United States: McGraw-Hill Education; 2013.
210. Shiffman ML, Sugerman HJ, Moore EW. Human gallbladder mucosal function. Effect of concentration and acidification of bile on cholesterol and calcium solubility. *Gastroenterology* 1990;99(5):1452-1459.
211. Reinhold JG, Ferguson LK, Hunsberger A. The Composition of Human Gallbladder Bile and Its Relationship to Cholelithiasis. *J Clin Invest* 1937;16(3):367-382.
212. Portincasa P, Moschetta A, Mazzone A, Palasciano G, Svelto M, Calamita G. Water handling and aquaporins in bile formation: recent advances and research trends. *J Hepatol* 2003;39(5):864-874.
213. Marinelli RA, Tietz PS, Pham LD, Rueckert L, Agre P, LaRusso NF. Secretin induces the apical insertion of aquaporin-1 water channels in rat cholangiocytes. *Am J Physiol* 1999;276(1):G280-286.
214. Marinelli RA, Lehmann GL, Soria LR, Marchissio MJ. Hepatocyte aquaporins in bile formation and cholestasis. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2011;16:2642-2652.
215. Schein CJ, Zumoff B, Kream J, Cassouto J, Hellman L. A blood-bile glucose barrier in man. *Gastroenterology* 1968;54(6):1094-1097.
216. Guzelian P, Boyer JL. Glucose reabsorption from bile. Evidence for a biliohepatic circulation. *J Clin Invest* 1974;53(2):526-535.

217. Cahill GF, Jr., Ashmore J, Earle AS, Zottu S. Glucose penetration into liver. *Am J Physiol* 1958;192(3):491-496.
218. Karim S, Adams DH, Lalor PF. Hepatic expression and cellular distribution of the glucose transporter family. *World J Gastroenterol* 2012;18(46):6771-6781.
219. Forker EL. Two sites of bile formation as determined by mannitol and erythritol clearance in the guinea pig. *J Clin Invest* 1967;46(7):1189-1195.
220. Lazaridis KN, Pham L, Vroman B, de Groen PC, LaRusso NF. Kinetic and molecular identification of sodium-dependent glucose transporter in normal rat cholangiocytes. *Am J Physiol* 1997;272(5 Pt 1):G1168-1174.
221. Munoz ME, Villanueva GR, Gonzalez J, Esteller A. Role of glucose reabsorption from bile on hyperglycaemia-induced cholestasis in the rabbit. *J Hepatol* 1986;3(1):66-71.
222. Garcia-Marin JJ, Villanueva GR, Esteller A. Diabetes-induced cholestasis in the rat: possible role of hyperglycemia and hypoinsulinemia. *Hepatology* 1988;8(2):332-340.
223. Igimi H, Yamamoto F, Lee SP. Gallbladder mucosal function: studies in absorption and secretion in humans and in dog gallbladder epithelium. *Am J Physiol* 1992;263(1 Pt 1):G69-74.
224. Elmslie RG, Thorpe ME, Colman JV, Boughton CR, Pritchard GR, Hoy RJ. Clinical significance of white bile in the biliary tree. *Gut* 1969;10(7):530-533.
225. Hashmonai M, Kam I, Schramek A. The etiology of "white bile" in the biliary tree. *J Surg Res* 1984;37(6):479-486.

# **Annexes**

# Annexe 1 : Formulaires d'approbation du comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA)



Le 30 mai 2017

Madame Marie-Claude Bélanger  
Professeure titulaire  
Faculté de médecine vétérinaire – département de sciences cliniques

Madame Bélanger,

À la suite de l'évaluation de votre demande d'autorisation d'utiliser des animaux pour le projet :

**Projet :** 17-Rech-1894

**Titre :** Composition biochimique de la bile chez le chat en santé et chez le chat atteint de cholangite suppurative septique

**Date d'échéance de l'autorisation d'utiliser les animaux :** 1<sup>er</sup> juin 2018

Le Comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA) vous remercie pour les réponses reçues et *approuve votre nouveau projet*.

Commentaires :

- Le service de l'enseignement vous permet d'utiliser les chats de la colonie d'enseignement pour votre projet qui sont à la fin de leur mandat pour l'enseignement et qui n'ont pas encore été adoptés.

Le secrétariat du CÉUA vous enverra sous peu une fiche d'autorisation d'utiliser des animaux. L'autorisation du CÉUA est valide pour une période **d'un an**.

Je demeure à votre entière disposition pour toute information supplémentaire et vous prie de recevoir, Madame Bélanger, mes meilleures salutations.

Le président du CÉUA,  
Jean-Pierre Vaillancourt

Le 5 juillet 2018

Madame Marie-Claude Bélanger  
Professeure titulaire  
Faculté de médecine vétérinaire – département sciences cliniques

Madame Bélanger,

À la suite de l'évaluation de votre demande d'autorisation d'utiliser des animaux pour le projet :

**Projet :** 18-Rech-1894

**Titre :** Composition biochimique de la bile chez le chat en santé et chez le chat atteint de cholangite suppurative septique

**Date d'échéance de l'autorisation d'utiliser les animaux :** le 1<sup>er</sup> juin 2019

Le Comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA) *approuve votre demande de renouvellement.*

Commentaires :

- Veuillez communiquer avec Normand Lacasse, technicien-animalier de FANI afin d'indiquer votre besoin d'utiliser des chats de la colonie d'enseignement et les manipulations prévues.

Le secrétariat du CÉUA vous enverra sous peu une fiche d'autorisation d'utiliser des animaux. L'autorisation du CÉUA est valide pour une période **d'un an**.

Je demeure à votre entière disposition pour toute information supplémentaire et vous prie de recevoir, Madame Bélanger, mes meilleures salutations.

La coordonnatrice du CÉUA,  
Maryse Dansereau

## Annexe 2 : Formulaire de consentement éclairé

Ceci est un accord entre Dr Marie-Claude Bélanger/Dr Romain Huvé directrice de l'étude clinique à la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal (**INVESTIGATEURS**) et ..... (**PROPRIÉTAIRE**) du chat ..... (**SUJET**) participant à l'investigation clinique : « *Étude visant à préciser la composition de la bile chez le chat en santé et lors de cholangites* » (**ESSAI**).

Les cholangites (inflammation des voies biliaires) sont des pathologies fréquentes chez le chat qui peuvent être secondaire à des infections bactériennes. Le moyen reconnu pour mettre en évidence les bactéries est la culture de bile dont le résultat est connu en minimum 2-3 jours. Nous croyons que certains paramètres rapidement mesurables dans la bile permettraient de distinguer un chat en santé d'un chat atteint de cholangite. Ceci permettrait un diagnostic présomptif plus rapide et donc une meilleure prise en charge des chats malades.

Les procédures qui vous sont proposées sont nécessaires pour obtenir le diagnostic de la pathologie de votre chat et sont les suivantes :

- Prise de sang
- Échographie abdominale
- Ponction d'urine échoguidée (cystocentèse) sous sédation avec analgésie
- Ponction de bile échoguidée (cholécystocentèse) sous sédation avec analgésie

Ces procédures diagnostiques sont faites de routine sur les chats présentant les symptômes d'une inflammation des voies biliaires et les complications associées sont très rares. Les complications significatives associées à une ponction de bile sont un saignement ou une fuite de bile dans l'abdomen (péritonite biliaire). Toutes les précautions seront prises pour éviter les complications mais si elles se produisaient, elles seraient à la charge du propriétaire.

Identification du SUJET :

**Nom :**

**Numéro de dossier :**

Il est convenu que :

- 1- L'inclusion d'un **SUJET** aux **ESSAIS** permettra l'obtention d'information par les **INVESTIGATEURS**. De telles informations pourront être publiées dans un journal vétérinaire afin d'accroître les connaissances de la communauté vétérinaire quant à cette nouvelle approche diagnostique.
- 2- Les prélèvements qui seront faits n'entraînent aucun effet néfaste chez le chat autre que l'action du prélèvement lui-même.
- 3- À leur discrétion, les **INVESTIGATEURS** pourront décider de retirer le **SUJET** des **ESSAIS** en avisant au préalable le **PROPRIÉTAIRE** à cet effet.

Le **PROPRIÉTAIRE** confirme que les **INVESTIGATEURS** ont expliqué en quoi consistent les **ESSAIS**. Le **PROPRIÉTAIRE** consent volontairement à ce que son animal participe aux

**ESSAIS** en tant que **SUJET** et consent à se conformer aux conditions citées par les **INVESTIGATEURS**.

Le **PROPRIÉTAIRE** convient que :

- 1- Le **SUJET** ne reçoit pas de traitement pour cette maladie au moment de la présentation initiale.
- 2- À sa discrétion, le **PROPRIÉTAIRE** peut décider de retirer le **SUJET** des **ESSAIS** en avisant au préalable les **INVESTIGATEURS** à cet effet.
- 3- Les informations issues des **ESSAIS** pourront être publiées, tout en préservant la confidentialité du **SUJET**.

En cas d'urgence, veuillez contacter Dr Romain Huvé par courriel : [romain.huve@umontreal.ca](mailto:romain.huve@umontreal.ca)

Convenu et accepté par :

Nom du **PROPRIÉTAIRE**

Signature du **PROPRIÉTAIRE**

Date

Nom de l'**INVESTIGATEUR**

Signature de l'**INVESTIGATEUR**

Date