L.S.C.A.E
Université Sultan Moulay Slimane
Beni Mellal-Maroc

L.C.P.T.
Université de Yaoundé I
Yaoundé-Cameroun

Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal
Centre des Etudes Doctorales : Sciences et Techniques

Thèse en cotutelle

Présentée pour l'obtention du

DOCTORAT

Option : **Ressourses Naturelles, Environnement et Santé**
Spécialité : ***Chimie Appliquée***

RECHERCHE DE PARAMETRES ETIOLOGIQUES DE LA LITHIASE URINAIRE DANS LA REGION DE TADLA-AZILAL (MAROC) ET LA REGION DE YAGOUA (CAMEROUN)

Soutenue publiquement par

Mr. Constant TCHEKA

Le 03 Juillet 2012

Devant la commission d'examination :

Pr. Abderrafia HAFID	*(FST- Beni Mellal)*	*Président*
Pr. Zehor AIT YACINE	*(FST- Beni Mellal)*	*Examinatrice*
Pr. Aziz HASIB	*(FST- Beni Mellal)*	*Examinateur*
Pr. Hassan CHAAIR	*(FST-Mohammedia)*	*Examinatteur*
Pr. Mohamed MBARKI	*(FST- Beni Mellal)*	*Directeur de thèse*
Pr. Benoît LOURA BENGUELLAH	*(Université de Maroua)*	*Co-Directeur de thèse*
Pr. Joseph KETCHA MBADCAM	*(Université de Yaoundé I)*	*Co-Directeur de thèse*

« L'opiniâtreté de mes pierres, spécialement en la verge, m'a parfois jeté en longues suppressions d'urine, de trois, de quatre jours : et si avant en la mort, que c'eût été folie d'espérer l'éviter, voire désirer, vu les cruels efforts que cet état m'apporte. »

Michel Eyquem de Montaigne (1533-1592)
Ecrivain Moraliste
Livre III, chapitre IV, page 1308.

Dédicace

A la mémoire de mon papa, reflet d'Homme courageux, patient et persévérant

Cette thèse a été réalisée par Constant TCHEKA pour l'obtention du Doctorat en cotutelle. Le thème du travail est « la recherche des paramètres étiologiques de la lithiase urinaires dans les régions de Tadla-Azilal (Maroc) et Yagoua (Cameroun). Le travail était sous la codirection de Pr. Mohammed MBARKI, Pr. Benoît LOURA BENGUELLAH et Pr. Joseph KETCHA MBADCAM. Il est effectué dans un contexte pluridisciplinaire qui associe la chimie physique, la biochimie, la cristallochimie, la spectrochimie.

Cette thèse a été menée en cotutelle entre deux laboratoires (Laboratoire de Chimie Physique te Théorique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I - Cameroun et Laboratoire de Spectrochimie Appliquée et Environnement de la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal-Université Sultan Moulay Slimane - Maroc). Les travaux relatifs à cette thèse ont commencé depuis l'année 2009.

Nos analyses ont pu être effectuées avec succès par la collaboration de plusieurs laboratoires :

Le Laboratoire de Spectrochimie Appliquée et Environnement de la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal, le Laboratoire de Chimie Physique et Théorique de la Faculté des Sciences – Université de Yaoundé I pour l'étude de la cristallurie, les dosages de l'oxalurie et de la calciurie et l'analyse des calculs par le microscope optique à lumière polarisée,

Le Laboratoire de Physique du Solide et des Couches Minces - Université Cadi Ayyad-Marrakech pour l'analyse des calculs par le microscope électronique à balayage (MEB),

Le laboratoire de Chimie Biologique et le centre d'analyses – Université Moulay Ismaël – Meknès pour l'analyse des calculs par l'IRTF et pour leur minéralisation en vue de l'analyse multi-élémentaire,

Le Centre Universitaire Régional d'Interface de l'Université Sidi Mohammed Ben Abdellah de Fès pour l'analyse multi-élémentaire des calculs par ICP-MS,

Les travaux ont été faits par auto-financement.

Nos résultats obtenus ont été sanctionnés par deux communications et deux publications :

Publications

1. **C. Tcheka**, A. Moubarik, A. Outzourhit, M. Mbarki, B. Loura Benguellah, J. Ketcha Mbadcam, A. Amhoud, O. Abdelaoui, M. Ait Lamqadem, A. Lamiri. Epidemiological Exploration of Urinary Stones, *Phys. Chem. News* (**2011**), **Vol. 61,** PP. 120-127.

2. **C. Tcheka**, M. Mbarki, B. Loura Benguellah, J. Ketcha Mbadcam, A. Amhoud, A. Moubarik ; Contribution Of Crystalluria Studies And Chemical Titration In Determining Lithogen Risk Parameters . (*Journal Marocain d'Urologie*; *en presse*)

Communications

1. **C. Tcheka**, M. Mbarki, B. Loura Benguellah, J. Ketcha Mbadcam, E.Oukani Contribution to the etiology study on the formation of kidney stones ; *4th International Meeting of Molecular Chemistry and Development*, (**RICMD4-2010**), organized in Marrakech on November 25th and 26th, 2010.

2. **C. Tcheka**, M. Mbarki, B. Loura Benguellah, J. Ketcha Mbadcam, A. Amechrouq, A. Amhoud and O. Abdelaoui ; Uric Crystalluria: Crystal Faces And Frequency Of Uric Acid And Urates ; *Symposium International de Chimie Hétérocyclique*, **27-29 Octobre 2011**, FSDM, Fès.

Je voudrais tout d'abord rendre grâce à Dieu, pour m'avoir accordé la santé afin de pouvoir mener de bout en bout ces travaux de recherche au Centre des Etudes Doctorales (CED) de la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal au Maroc durant ces trois dernières années.

Qu'il me soit permis de commencer par témoigner ma profonde gratitude au professeur **MBARKI MOHAMED**, lui qui m'a proposer ce thème de recherche dont l'importance n'est plus à démontrer, pour sa constante disponibilité à distance comme à proximité, les prestigieux conseils qu'il m'a prodigués, son habileté d'investigation et son dévouement à guider mes pas dans la recherche et surtout, pour ses exhaustives relations humaines à travers les villes marocaines dans lesquelles nos analyses ont pues être effectuées avec assez bonne aisance.

Mes sincères remerciements au Professeur **BENOIT LOURA BENGUELLAH**, chef de Département de l'industrie Textile et d'habillement de l'Institut Supérieur du Sahel et par ailleurs, vice-recteur de l'Université de Maroua - Cameroun qui a bien voulu m'encadrer dans ces travaux de recherche dans la partie scientifique camerounaise. C'est également par son incontournable intermédiaire que nous avons pu collecter les échantillons de calculs urinaires à l'hôpital du district de Yagoua au Cameroun et avons pu effectuer l'étude de la cristallurie à l'hôpital régional de Maroua - Cameroun.

Je suis redevable au professeur **JOSEPH KETCHA MBADCAM**, co-directeur de cette thèse et part ailleurs, responsable du laboratoire de Chimie Physique et Chef de Département de Chimie Inorganique de la faculté des sciences de l'Université de Yaoundé I, pour tout le temps qu'il a bien voulu consacré pour la réussite de ces travaux de recherche durant ces dernières années, sa sagesse et sa maturité intellectuelle dont je n'ai hésité à imiter et qui m'ont permis de franchir diverses étapes de mon parcours personnel et intellectuel dans la recherche et dans la rédaction des documents scientifiques.

Mes remeciements au **Pr. Abderrafia HAFID** qui a bien voulu présider ce jury de soutenance et précieuses recommandations.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit du professeur **OUSSAMA ABDELKHALED**, responsable du laboratoire de Spectrochimie Appliqué et Environnement

de la FST de Beni-Mellal où nous avons effectué l'étude de la cristallurie et l'examen morpho-constitutionnel microscopique des calculs par la loupe binoculaire et par le microscope optique à polarisation ; au professeur **Abdelkader OUTZOURHIT**, responsable du Laboratoire de Physique du Solide et des Couches Minces de l'Université Cadi Ayyad à Marrakech qui a bien voulu nous accueillir pour effectuer l'analyse des calculs par le microscope électronique à balayage (MEB), au **Pr. BENANI**, responsable du laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté des Sciences de l'Université Sultan Moulay Ismaël de Meknès, lui qui nous accordé l'accès au spectrophotomètre FT-IR à l'analyse par spectrophotométrie infrarouge et la minéralisation des calculs pour l'analyse à l'ICP-MS, à Mr. **A. Amhoud** pour son chaleureux accueil et son encadrement dans la ville de Meknès, et plus particulièrement au laboratoire Chimie Biologique pour la préparation des pastilles pour le FTIR et la minéralisation des échantillons de calculs.

Ce serait pour moi de l'ingratitude de ne pas témoigner dans un paragraphe, les incommensurables efforts fournis par ma famille ainsi que leur soutient durant tout mon cycle universitaire jusqu'à ce jour. Qu'ils trouvent ici mes sincères remerciements et que ce travail représente le flambeau à suivre par mes frères cadets.

Je n'oublie pas le Dr. HAROUNA Massaï, lui qui m'a permis d'établir cette relation de recherche avec le Pr. MBARKI pour la réalisation d'une partie de cette thèse.

Je pense aussi à mes camarades de promotion : EL BIR Mustapha, LEOUI FOUDI Inès, HOULALI Ilham, eux qui ont su entretenir une ambiance de travail au laboratoire et pour leur accueil chaleureux à la FST de Beni Mellal.

Je pense à mon ami JAWAD GHAZAL, doctorant au Laboratoire de Géoressoure pour son aide lors de la réalisation des photographies de nos échantillons par le microscope optique à lumière polarisée.

Je n'oublie pas la communauté estudiantine africaine au Maroc (CESAM), dont sa présence à la soutenance m'a été d'un très grand reconfort et source d'inspiration et de confiance.

Enfin, que tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué tant affectueusement que matériellement au bon déroulement des travaux de cette thèse et dont les noms n'ont été mentionnés particulièrement dans ce paragraphe, trouvent ici l'expression de ma reconnaissance la plus distinguée.

L'urolithiase est une maladie dont son épidémiologie connaît une évolution spectaculaire à nos jours et son étiologie est loin d'être cernée. La recherche des paramètres étiologiques qui entrainent la formation des calculs urinaires par des techniques chimiques et physiques était au centre de ce travail. Il ressort des résultats des analyses que la majorité des calculs se localisent dans les reins (97,08%) et sont extraits par chirurgie (61,31%) que par lithotritie extracorporelle (21,9%). Une prédominance masculine a été observée avec un ratio homme/femme d'environ 1,25 : 1 et la tranche d'âge la plus affectée est comprise entre 40 et 50 ans. L'oxalate de calcium est l'espèce chimique majoritaire et la plus fréquente (63%) et est représenté par sa forme cristalline mohydraté ; la whewellite, suivi des phosphates calciques (16,8%) puis des purines (13,14%) et enfin du phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (struvite) (5,97%). Une bonne corrélation a été établie entre les différentes techniques d'analyse utilisées : les résultats étaient similaires à 98.9% entre le MEB et l'IRFT ; 94.5% entre le (SMB-MOLP) et l'IRFT enfin, 92.2% entre le MEB et le (SMB-MOLP). Le couplage entre deux techniques d'analyse (une première morphologique (SMB) et une deuxième spectroscopique ou optique, voire électronique, fournit des résultats plus exhaustifs. Ainsi, le couplage « technique morphologique - technique optique constitutionnelle » justifie la valorisation du microscope optique à lumière polarisée dans l'analyse des calculs urinaires en tant que moyen de routine en premiers diagnostics de leur composition chimique. Dans beaucoup de cas, on peut déjà à ce niveau, remonter au contexte étiologique de l'urolithiase. L'étude de la cristallurie et les dosages chimiques même approximatives fournissent des informations sur la composition chimique et cristalline d'un type de calcul et peuvent de ce fait orienter vers l'étiologie causale de l'urolithiase oxalo-calcique. Bien que les lithiases urinaires soient de causes multifactorielles, les paramètres étiologiques communs sont la sursaturation des urines par défaut d'apport hydrique ou par des surcharges alimentaires entrainant l'hyperacidité urinaire, l'âge adulte engendrant le ralentissement des activités métaboliques des cellules, les infections urinaires, les mauvaises habitudes alimentaires, la sédentarité, les anomalies anatomiques et métaboliques, les maladies héréditaires et les facteurs climatiques.

Abstract

Urolithiasis is a disease of which its epidemiology is remarkably increased and its etiology is far from being mastered. This work is on the research of the etiological parameters that contributes to the urinary stones development by chemical and physical technics of analysis. The results of the analysis show that the majority of stones are localized in kidneys (97.08%) and are more extracted by surgerycal way (61.31%) than extracorporeal wave shock Lithotripsy (21.9%). A masculine predominance with a man/woman ratio of about 1.25: 1 has been observed and of the most affected age group is consisted between 40 and 50 years. Calcium oxalate is the majority and most frequent chemical species (63%) followed by calcium phosphates (16.8%), purines (13.14%) and finally by magnesium ammonium phosphate hexahydrate (struvite) (5.97%). A good interrelationship has been established between the different technics used for analysis (i.e. 98.9% between SEM and FTIR; 94.5% between (BSM-OPLM) and FTIR and finally, 92.2% between SEM and (BMS-OPLM). The coupling between two analysis technics (one morphological (BSM) and a second other spectroscopic or optical, or even electronic) provides more exhaustive results. Thus, the coupling bethwin morphological and optical method justifies the valorization of optical polarized light microscope in the urinary stones analysis as a routine means in the first diagnostic of their chemical composition. In several cases, one can already at this stage go back up to the etiological history of the urolithiasis. Several informations on chemical and crystalline composition of lithiasis are provided by crystalluria studies and the chemical titration and can orient toward the etiology of urolithiasis. Although urinary lithiasis is multifactorial pathology, the common etiological parameters are oversaturation of urines by hydrate default contribution or food overcharges allowing to urinary hyperacidity, adulthood, urinary infections, bad food habits, sedentary lifestyle, anatomical and metabolic abnormality, hereditary illnesses and climatic factors.

ملخص الأطروحة

يعرف داء الحصى البولية حاليا تطورا مدهشا علما أن أسبابه لازالت لم تحدد بدقة. قد تم من خلال هده الأطروحة البحث عن العوامل المسببة في تطور الداء و ذلك بفضل تقنيات كيميائية وفيزيائية. و من نتائج هده الاطروحة أن الحصى البولية تستقر غالبا في الكلى (97.08٪). يتم إزالة الحصى بواسطة طريقة الجراحة أكثر (61.31٪) من طريقة تفتيت الحصى من خاج الجسم (21.9٪). وقد لوحظ أنه تقريبا كل 5 ذكور مقابل 4 إناث يتعرضون لهذا الداء وأن الفئة العمرية الأكثر تضررا هي للأشخاص ذوي السن بين 40 و50 سنة. أوكسالات الكالسيوم هو الصنف الكيميائي الأكثر شيوعا في الحصى (61.31 ٪) يليه فوسفات الكالسيوم (18.98٪) ثم حامض اليوريك و مشتقاته (13.14٪) وفوسفات الأمونيوم (ستروفايت) (5.97٪). قدمت هذه الأطروحة علاقة تناسبية بين التقنيات المختلفة المستخدمة في التحليل :98.9٪ بين المجهرية الالكترونية الماسحة ("SEM") و الطيفية التحت حمراء ذات تغيير فوريه ("FTIR")، 94.5٪ بين المجهرية البصرية ("SMB - MOLP") و الطيفية التحت حمراء ذات تغيير فوريه ("FTIR")، 92.2٪ بين المجهرية الالكترونية الماسحة ("SEM") و المجهرية البصرية ("MOLP-SMB"). يوفر الربط التكاملي بين اثنتين من تقنيات التحليل (الأولى مورفولوجية والثانية بصرية أو إلكترونية نتائج أكثر شمولا. وبالتالي، فإن هذا النوع من الربط يبرر تثمين جهاز المجهر البصري ذي الضوء القطبي من أجل تحليل البول كوسيلة من وسائل التشخيص المبكر والروتيني أثناء تكوين الحصى. في كثير من الحالات، يمكننا بالفعل على هذا المستوى التعرف على أسباب الداء. توفر دراسة البلورات الصغيرة المتواجدة في البول، وبفضل القياسات الكيميائية، معلومات حول التركيبة الكيميائية والصنف البلوري للبول و بالتالي يمكن ان نصل الى العوامل المسببة للداء. رغم تعدد هذه الأخيرة، تبقى العومل الشائعة هي حالة "ما فوق التشبع البولي" الناتجة عن نقص في كمية الماء أو عن غنى في المواد الغذائية في الجسم، التقدم في السن، التشوهات الخلقية، التهابات المسالك البولية، العادات الغذائية السيئة، قلة النشاط البدني، الأمراض الوراثية والعوامل المناخية.

Sommaire

Titre *…… Page*

Dédicace *……ii*

Avant-propos *……iii*

Remerciements *…….v*

Résumé *……vii*

Abstract *……viii*

Résumé en arabe *……iv*

Sommaire *……x*

Liste des tableaux *……xv*

Liste des figures *…… xvii*

Liste des abréviations *……xv*

Glossaire des lithiases *……xxii*

INTRODUCTION GENERALE……1

CHAPITRE 1

ETUDE BIBLIGRAPHIQUE……7

1.1. Introduction **8**

1.2. Localisation anatomique des calculs sur l'arbre urinaire **8**

1.3. Epidémiologie et prévalence des lithiases urinaires **9**

1.3.1. Facteurs épidémiologiques 12

1.3.1.1. Facteurs intrinsèques 12

1.3.1.2. Facteurs d'environnement 14

1.4. Types de lithiases et composition chimique des calculs **18**

1.4.1. Lithiases Organiques 19

1.4.1.1. Lithiase de 2,8-dihydroxyadénine 19

1.4.1.2. Lithiase de cystine 20

1.4.1.3. Lithiases urique et uratique 20

1.4.2. Lithiases minérales 22
1.4.2.1. Lithiases oxalocalciques 22
1.4.2.2. Lithiases phosphocalciques 23
1.4.2.3. Lithiase de phosphate ammoniacomagnésien 24
1.4.3. Lithiases médicamenteuses 26
1.5. Traitement urologique des lithiases urinaires 28
1.5.1. Lithotritie extracorporelle (LEC) 28
1.5.2. Urétéroscopie 29
1.5.3. Néphrolithotomie percutanée (NLPC) 29
1.5.4. Chirurgie à ciel ouvert, laparoscopie 29
1.5.5. Orientations d'un traitement 30
1.5.5.1. Calcul rénal 30
1.5.5.2. Calcul urétéral 30
1.5.5.3. Calcul vésical 31
1.6. Classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires 31
1.7. Mécanismes de la lithogenèse 37
1.7.1. Etapes de la formation des calculs (calculogenèse) 37
1.7.1.1. Cas particuliers : La lithogenèse infectieuse 47
1.7.2. Promoteurs et inhibiteurs de la cristallisation 48
1.7.3. Influence du pH urinaire sur la lithogenèse 50
1.7.4. Rôle lithogène de l'acidité 51
1.7.5. Rôle lithogène de l'alcalinité 52
1.7.6. Indicateurs du risque lithogène oxalocalcique 52
1.7.6.2. Indice de risque lithogène 54
1.8. Analyse des calculs urinaires 56
1.8.1. But de l'analyse des calculs urinaires 56

1.8.2. Méthodes d'analyse 57

1.8.2.1. Méthodes chimiques 57

1.8.2.2. Méthodes physiques 58

1.9. Conclusion **65**

CHAPITRE 2

MATERIELS ET TECHNIQUES EXPERIMENTALES……..66

2.1. Introduction **67**

2.2. Echantillonnage de calculs urinaires **68**

2.3. Examen et typage morphologique par stéréomicroscopie binoculaire **74**

2.3.1. Appareillage 74

2.3.2. Principe 74

2.4. Analyse constitutionnelle par microscopie optique à lumière polarisée (MOLP) **75**

2.4.1. Appareillage 75

2.4.2. Principe 75

2.5. Analyse constitutionnelle par microscopie électronique à balayage (MEB). **76**

2.5.1. Appareillage 76

2.5.2. Principe 77

2.6. Analyse constitutionnelle par spectrophotométrie infrarouge moyen à transformée de Fourier (SMIR-TF). **78**

2.6.1. Appareillage 78

2.6.2. Préparation de l'échantillon : Pastillage 78

2.6.3. Principe de la spectrophotométrie IRTF 79

2.7. Analyse multi-élémentaire par spectrométrie de masse couplée au plasma inductif (ICP-MS). 81

2.7.1. Minéralisation des échantillons. 81

2.7.2. Protocole d'analyse des solutions minérales par ICP-MS. 82

2.7.2.1. Appareillage 82

2.7.2.2. Principe. 82

2.7.2.3. Extraction des ions 83

2.7.2.4. Séparation des ions selon leurs masses 83

2.7.2.5. Détection et comptage des ions 84

2.8. Etude de la cristallurie **84**

2.8.1. Echantillonnage d'urines 84

2.8.2. Protocole d'étude de la cristallurie 84

2.8.2.1. Matériel 84

2.8.2.2. Protocole standard d'analyse de la cristallurie 84

2.9. Dosages chimiques de l'oxalurie et de la calciurie. **85**

2.9.1. Dosage complexiométrique des ions calcium (Ca^{2+}) par l'EDTA 86

2.9.2. Dosage des oxalates par oxydoréduction au permanganate de potassium 88

CHAPITRE 3

RESULTATS ET INTERPRETATIONS……..……..91

Introduction **92**

3.1. Localisation et méthode d'extraction des calculs urinaires **92**

3.2. Données épidémiologiques **93**

3.3.1. Examen optique par la loupe binoculaire et typage morphologique 93

3.3.2. Analyse constitutionnelle par le microscope optique à lumière polarisée (MOLP) ... 95

3.3.4. Analyse constitutionnelle par spectrophotométrie moyen infrarouge à transformée de Fourier et dépouillement des spectres. 107

3.4. Corrélation entre les méthodes d'analyse. **118**

3.6. Répartition des calculs urinaires suivant leur étiologie **120**

3.7. Profil chimique des constituants des calculs **121**

3.7.1. Profil général en fonction des constituants majoritaires 121

3.7.2. Distribution des constituants majoritaires des calculs en fonction de l'âge et du sexe. 123

3.8. Résultats de l'analyse multi-élémentaire des calculs urinaires par ICP-MS..... **126**

3 .8.1. Teneur des calculs en matière organique..... 126

3.8.2. Composition élémentaire déterminée par ICP-MS..... 127

3.9. Influence de la calciurie et de l'oxalurie sur la cristallisation oxalocalcique..... **128**

3.9.1. Cristallurie 128

3.9.2. Dosage chimique volumétrique des calciurie et oxalurie apparentes..... 133

CHAPITRE 4

DISCUSSIONS……138

Introduction **138**

4.1. Localisation et expulsabilité des calculs urinaires. **139**

4.2. Epidémiologie, étiologie et profil chimique des calculs. **140**

4.3. Optimisation des méthodes d'analyse des calculs urinaires..... **143**

4.4. Rôle des métaux dans la lithogenèse..... **146**

4.5. Contribution de l'étude de la cristallurie et des dosages chimiques à la recherche des paramètres de risque de cristallisation oxalocalcique. **148**

CONCLUSIONS GENERALES..... 153

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ……..158

ANNEXES ……173

Liste des tableaux

Tableau 1: Constituants chimiques fréquents des calculs urinaires (Daudon et al, 1993 ; Daudon et Doré, 1999)----------25

Tableau 2: Médicaments identifiés dans les calculs urinaires (Servais, 2004) ----------27

Tableau 3: Classification morpho-constitutionnelle des calculs de l'arbre urinaire et ses relations avec les principales causes de nucléation et de croissance selon Michel Daudon (Daudon M. et al, 1999 ; Daudon M., Lettre 55, Dec.98) ----------33

Tableau 4: Principales associations morphologiques (Daudon M. et al, 1999)----------35

Tableau 5: Classification des calculs rénaux selon Felix Grases (Grases F. et al, 2002)-------36

Tableau 6: Inhibiteurs de la cristallisation (Daudon et al, 2008b)----------50

Tableau 7: Domaine usuel de pH favorisant la précipitation des principales espèces cristallines observées dans les urines. (Daudon M. et al, 2008b)----------51

Tableau 8: Récapitulatif des résultats d'analyse morpho-constitutionnelle par différentes techniques---------- 119

Tableau 9: Classification des calculs selon le contexte étiologique de leur formation ------- 121

Tableau 10: répartition des calculs en fonctions des constituants majoritaires (série de Tadla-Azilal) ---------- 122

Tableau 11: répartition des calculs en fonctions des constituants majoritaires (série de Yagoua) ---------- 123

Tableau 12: Répartition des constituants majoritaires en fonction de l'âge chez l'homme-- 124

Tableau 13: Répartition des constituants majoritaires en fonction de l'âge chez la femme - 125

Tableau 14: Teneur des calculs en matière organique---------- 127

Tableau 15: composition élémentaire des calculs par ICP-MS ---------- 128

Tableau 16: Fréquence (%) des cristaux en composant majoritaire dans les urines en fonction du sexe et de la région chez les patients lithiasiques. ---------- 129

Tableau 17: Fréquence (%) des cristaux en composant majoritaire dans les urines en fonction du sexe et de la région chez les sujets sains---------- 130

Tableau 18: Fréquence des cristalluries majoritaires (nombre) en fonction de l'âge --------- 133

Figure 1: Calcul rénal de whewellite ; sous-type morphologique Ia dont la cause est essentiellement nutritionnelle (apport en excès d'oxalate). Notez les traces (flèches) laissées par les impacts des ondes de choc extracorporelles utilisées en première intention ---------- 4

Figure 2 : Localisation anatomique des calculs sur l'appareil urinaire---------- 9

Figure 3 : Etapes de la calculogenèse oxalo-calcique (*Daudon et al, 2000*) ----------38

Figure 4: Représentation schématique des différents niveaux de saturation urinaire (*Doddametikurke et al, 2007*)----------40

Figure 5: Calcul papillaire de whewellite formé à partir d'un moule tubulaire de carbapatite et d'urate de sodium (*Daudon M. et al, 2008b*) ----------43

Figure 6: Calcul de whewellite formé sur la papille rénale à partir d'une plaque de Randall (*Daudon et al, 2008b*)----------45

Figure 7: Calcul d'oxalate de calcium montrant la transformation des cristaux anguleux de weddellite initialement formés en structure mamelonnée de whewellite par conversion cristalline (*Daudon M. et al, 2008b*) ----------46

Figure 8: Représentation schématique de la décomposition de l'urée par des micro-organismes uréasiques induisant la formation de la struvite et/ou de phosphates de calcium fortement carbonatés. (*Carpentier X. et al, 2009*) ----------48

Figure 9: Promoteurs, substances cristallisables et espèces cristallines (*Daudon M. et al, 2008a)* ----------49

Figure 10: Calcul vésical extrait par chirurgie ; surface lisse et bosselée, de couleur beige à orangée ----------69

Figure 11: Calcul vésical extrait par chirurgie, rugueux, bourgeonné, aspect crème brun foncé à brun noir, légère voile grisâtre. ----------69

Figure 12: Calcul vésical extrait par chirurgie : surface très peu bosselée de couleur beige à orange ----------70

Figure 13: Calcul vésical extrait par chirurgie : rugueux, mamelonné, brun jaune ; section présentant de très fines couches sans cristallisation radiale. ----------70

Figure 14: Calcul vésical extrait par chirurgie : intérieur rougeâtre, surface périphérique blanc à beige. ----------71

Figure 15: Calcul vésical extrait par chirurgie ; surface lisse et dur, de couleur blanchâtre---71

Figure 16: Calcul vésical extrait par chirurgie ; surface plus ou moins homogène, cristaux soudés aux angles peu vifs, blanc ----------72

Figure 17 : Calcul vésical extrait par chirurgie ; surface plus ou moins homogène, cristaux soudés aux angles peu vifs, blanc ----------72

Figure 18: Calcul vésical extrait par chirurgie ; surface hétérogène, bosselée, intérieur rugueux et mamelonné. ----------72

Figure 19: Calcul vésical extrait par chirurgie ; cristaux aux angles peu vifs, blanc ----------73

Figure 20: Calcul vésical extrait par chirurgie ; cristaux épais et ternes aux angles émoussés, beige crème ----------73

Figure 21: Loupe binoculaire ----------74

Figure 22: Microscope optique à lumière polarisée Olympus BX41 ----------75

Figure 23: Microscope électronique à balayage, JEOL JSM-5500----------77

Figure 24: Spectrophotomètre model JASCO FT/IR - 4100 ----------78

Figure 25: Principe de l'interféromètre de Michelson ----------80

Figure 26 : Relation entre interférogramme et spectre infrarouge----------80

Figure 27: Spectrophotomètre HORIBA JOBIN IVON, model ACTIVA ----------82

Figure 28: Schéma d'une cellule de collision/réaction (CRC) ----------83

Figure 29 : Mode opératoire du dosage des ions calcium----------88

Figure 30 : Mode opératoire du dosage des ions oxalates ----------88

Figure 31: Diagramme circulaire des méthodes d'extraction des calculs urinaires ----------93

Figure 32: (échantillon 1) Cristaux polarisants d'oxalate de calcium monohydraté (oviformes) et d'acide urique dihydraté (losange) vus sous grossissement 40x ----------96

Figure 33: (échantillon 2) Cristaux cylindriques polarisants d'oxalate de calcium monohydraté, sous grossissement de l'objectif à 40x ----------96

Figure 34: (échantillon 3) Microcristaux prismatiques fortement polarisants de whewellite, gros cristal d'acide urique anhydre (en pentagone)----------97

Figure 35: (échantillon 4) gros cristal octaédrique mal formé d'oxalate de calcium dihydraté ----------97

Figure 36: (échantillon 5) Gros cristal orthorhombique de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté au milieu de microcristaux amorphe plus ou moins polarisants de carbapatite --98

Figure 37: (échantillon 9) Image d'un microcristal orthorhombique de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (struvite) sous grossissement de l'objectif----------99

Figure 38: (échantillon 10) Microcristal octaédrique d'oxalate de calcium dihydraté (weddellite) ---------- 99

Figure 39: (échantillon 1) Micrographes par le MEB des cristaux d'acide urique anhydre 101

Figure 40: (échantillon 2) Micrographe du MEB des cristaux de whewellite ---------- 102

Figure 41: (échantillon 3) Micrographe par le MEB des cristaux d'oxalate de calcium monohydraté (whewellite). ---------- 102

Figure 42: (échantillon 4) Micrographe par le MEB des cristaux de whewellite ---------- 103

Figure 43: (échantillon 5) Micrographe par le MEB Image des cristaux de struvite et de carbapatite ---------- 103

Figure 44: (échantillon 6) Micrographe par le MEB des cristaux de carbapatite ---------- 104

Figure 45: (échantillon 7) Micrographe par le MEB des cristaux de struvite et de carbapatite ---------- 105

Figure 46: (échantillon 8) Micrographe par le MEB des cristaux de whewellite ---------- 105

Figure 47: (échantillon 9) Micrographe par le MEB des cristaux de carbapatite, Brushite et de struvite ---------- 106

Figure 48: (échantillon 10) Micrographe par le MEB des cristaux de whewellite ---------- 106

Figure 49: (échantillon 1) Spectre IRTF d'un calcul d'acide urique anhydre (majoritaire) et d'oxalate de calcium monohydraté ---------- 108

Figure 50: (échantillon 2) Spectre IRTF de l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) pur. ---------- 109

Figure 51: (échantillon 3) Spectre IRTF d'un calcul mixte d'acides uriques (AU0+AU2) - 110

Figure 52: (échantillon 4) Spectre IRTF d'un calcul mixte constitué d'oxalate de calcium monohydraté (majoritaire) et de carbapatite ---------- 111

Figure 53: Spectre IRTF du noyau de l'échantillon 5N, constitué majoritairement d'acide urique anhydre et quelque trace de l'hydrogénophosphate de calcium dihydraté (brushite) 112

Figure 54 : Spectre IRTF de la surface externe de l'échantillon 5P, constitué phosphates calciques mixtes (brushite > carbapatite), majoritaire en brushite ---------- 113

Figure 55: (échantillon 6) Spectre IRTF d'un calcul mixte de whewellite et de carbapatite 114

Figure 56: (échantillon 7) Spectre IRTF d'un calcul de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (struvite) ---------- 115

Figure 57: (échantillon 8) Spectre IRTF d'un calcul mixte (Whewellite > Carbapatite > Struvite), majoritaire en whewellite. ---------- 116

Figure 58: (échantillon 9) Spectre IRTF d'un calcul de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (struvite) pur. ---------- 117

Figure 59: (échantillon 10) Spectre IRTF d'un calcul mixte d'oxalate de calcium dihydraté (weddellite) et de carbapatite ---------- 118

Figure 60: Distribution des constituants majoritaires en fonction de l'âge chez l'homme -- 126

Figure 61: Cristallurie d'acide urique dihydraté composé de volumineux agrégats de cristaux tubulaires observés par MOLP dans une urine à pH=5,5 ---------- 131

Figure 62: Cristallurie d'oxalate de calcium monohydraté, constitué des cristaux ovales observés par MOLP, pH= 6,2---------- 131

Figure 63: Cristallurie mixte de whewellite (petits cristaux à centre déprimés) et de struvite (gros cristal cruciforme à branches non orthogonales), pH=7,8 ---------- 132

Figure 64: Précipitation de fines granulations non polarisantes d'urates amorphes complexes observées par MOLP, pH=6,1 ---------- 132

Figure 65: Diagramme des concentrations apparentes en calcium urinaire en fonctions des concentrations apparentes des oxalates : série de Tadla-Azilal (CN : cristalluries négatives, OCM : oxalate de calcium monohydraté, OCD : oxalate de calcium dihydraté)---------- 135

Figure 66: Diagramme des concentrations apparentes en calcium urinaire en fonctions des concentrations apparentes des oxalates : série de Maroua---------- 135

Figure 67: Diagramme des rapports des concentrations apparentes en calcium à celles des oxalates urinaires ($[Ca^{2+}]$ /$[Ox^{2-}]$) en fonction de leur produit ($[Ca^{2+}].[Ox^{2-}]$) à Tadla-Azilal ---------- 136

Figure 68: Diagramme des rapports des concentrations apparentes en calcium à celles des oxalates urinaires ($[Ca^{2+}]$ /$[Ox^{2-}]$) en fonction de leur produit ($[Ca^{2+}].[Ox^{2-}]$) : série de Maroua ---------- 136

Figure 69: Diagramme des rapports ($[Ca^{2+}]/[Ox^{2-}]$) en fonction des produits ($[Ca^{2+}].[Ox^{2-}]$); en bleu : cristalluries négatives des sujets normaux et en couleur vert rouge : cristallurie positive des patients lithiasiques.---------- 137

IRTF ou FTIR**:** infrarouge à transformée de Fourier ; technique physique d'analyse constitutionnelle des calculs urinaires.

MEB ou SEM) : microscope électronique à balayage.

MOLP : microscope optique à lumière polarisée

LB : loupe binoculaire

SM-CPI ou ICP-MS : spectroscopie de masse couplée au plasma inductif.

OCM : oxalate de calcium monohydraté

OCD : oxalate de calcium dihydraté

AU0 : acide urique anhydre

AU2 : acide urique dihydraté

UrAm : urate acide d'ammonium

UAC : urate amorphe complexe

CA : carbapatite (apatite carbonaté)

PACC : phosphate amorphe de calcium carbonaté

PAM : phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté

Chol : cholestérol

Acide urique anhydre ou uricite : acide urique cristallisé dans le système monoclinique. L'uricite est la forme la moins soluble et thermodynamiquement la plus stable de l'acide urique cristallisé. C'est donc vers cette forme qu'évoluent spontanément les autres formes sous lesquelles l'acide urique cristallise dans les urines.

Acide urique dihydraté : acide urique cristallisé dans le système orthorhombique. C'est la forme cristalline la plus fréquente de l'acide urique dans les urines acides. Elle est aussi thermodynamiquement peu stable et se transforme en quelques semaines ou quelques mois en uricite.

Acidose : situation métabolique où le pH moyen des liquides de l'organisme ou le pH intracellulaire ne peuvent plus être régulés correctement et maintenus à un niveau constant en raison soit d'un excès d'apport ou de production de substances acides, soit d'un défaut de production ou d'un excès de pertes de bases.

Anurie : diminution du volume urinaire à moins de 300 mL/24H chez l'adulte.

Calciurie : désigne la concentration (exprimée en milligrammes ou millimoles par litre d'urine) ou le débit (exprimé en milligrammes ou millimoles par 24 heures) du calcium dans les urines.

Calculogenèse : ensemble des processus qui, à partir de cristaux présents dans le milieu considéré, conduisent à leur rétention, à leur agglomération et à leur croissance pour former des concrétions plus ou moins volumineuses.

Carbapatites : phosphates de calcium carbonatés cristallisés dans le système hexagonal.

Coliques néphrétiques : manifestations douloureuses extrêmement violentes qui traduisent l'existence d'une obstruction de la voie excrétrice du côté de la douleur.

Contournement de jéjuno-iléal (jejunoileal bypass) **:** opération de pontage chirurgical effectuée spécialement pour réduire l'absorption dans l'intestin grêle qui consiste à joindre la première partie du jéjunum au segment plus distale de l'iléon.

Conversion cristalline : processus au cours duquel une espèce cristalline instable se transforme en une autre espèce cristalline de même composition, mais de structure cristalline différente et généralement moins hydratée.

Coralliforme : mot utilisé pour désigner un calcul ou un ensemble de calculs ayant la forme de corail et moulant une grande partie, voire la totalité des cavités excrétrices intra-rénales (bassinet + calices).

Cristallogenèse : ensemble des processus conduisant à la formation, à la croissance et à l'agrégation de cristaux à partir d'une solution sursaturée.

Cristallurie : présence de cristaux dans les urines.

Diathèse goutteuse : goute due ou rhumatisme dû la formation de gravelles d'acide urique.

Diurèse : désigne la quantité d'urines éliminées au cours d'une période de temps définie.

Epitaxie : processus de cristallisation permettant la croissance des cristaux d'une même espèce ou d'espèces différentes les uns sur les autres selon des orientations privilégiées qui dépendent des paramètres cristallographiques de chaque espèce.

Homéostasie : processus physiologique permettant de maintenir certaines constantes du milieu intérieur de l'organisme (ensemble des liquides de l'organisme ; urine par exemple) nécessaires à son bon fonctionnement (entre les limites des valeurs normales).

Hypercalciurie : excrétion ou concentration excessive de calcium dans les urines.

Hyperoxalurie entérique : excrétion urinaire de l'acide oxalique de 40 mg en 24 heures à la suite d'un excès d'absorption de l'acide oxalique au colon en raison d'un excès de la malabsorption de toute cause (résection de l'intestin, des maladies intestinales intrinsèques, bypass jejuno)

Hyperoxalurie : excrétion ou concentration excessive d'ions oxalate dans les urines.

Hyperuricurie : excrétion ou concentration excessive d'acide urique dans les urines.

Inhibiteurs de cristallisation : substances présentes dans les urines qui sont capables, par différents mécanismes, de s'opposer à une ou plusieurs phases de la cristallisation des substances en sursaturation.

Insuffisance rénale aiguë : défaillance brutale de la fonction rénale se traduisant par un arrêt total (anurie) ou presque total (oligurie) de l'émission d'urine. Diminution rapide de la filtration glomérulaire ayant pour conséquence la non excrétion des déchets azotés (urée, créatine, acide urique)

Insuffisance rénale chronique : altération permanente ou progressive de la fonction rénale dont les causes peuvent être très diverses : glomérulopathie, pyélonéphrite chronique, diabète, etc. Diminution progressive, importante et définitive de la filtration glomérulaire.

Insuffisance rénale terminale : stade ultime de l'insuffisance rénale chronique, nécessitant un traitement par dialyse de suppléance pour assurer l'épuration du sang.

Lithogenèse : ensemble des mécanismes qui conduisent à la formation d'un calcul.

Lithotritie (lithotripsie) extracorporelle : technique urologique consistant à fragmenter un calcul dans l'arbre urinaire pour en faciliter l'extraction ou l'élimination spontanée.

Néphrolithotomie percutanée : technique chirurgicale peu invasive permettant d'extraire un calcul intrarénal par un néphroscope introduit directement dans le rein par un orifice cutané de faibles dimensions créé au niveau de la région lombaire.

Ombilication : dépression observée à la surface d'un calcul et correspondant à un moulage partiel de la rénale sur laquelle le calcul a pris naissance, d'où le nom d'ombilication papillaire donné à cette dépression.

Oxalurie : concentration (exprimée en milligrammes, en micromoles ou en millimoles par litre) ou débit (exprimé en milligrammes, en micromoles ou en millimoles par 24 heures) des ions oxalate dans l'urine.

Plaque de Randall : petite calcification accrochée à l'extrémité d'un tube collecteur ou ancrée sur la papille rénale et servant de support pour la nucléation hétérogène de certaines substances cristallines, mais surtout de la whewellite.

Pyélonéphrite : infection bactérienne (Escherichia coli) des voies urinaires hautes, touchant donc le bassinet (pyélite) et le parenchyme rénal (néphrite), compliquant ou s'associant à une infection et/ou inflammation des voies urinaires basses.

Sténose : rétrécissement du calibre de l'artère rénale pouvant conduire à l'insuffisance rénale terminale.

Urate acide de sodium monohydraté : espèce cristalline se formant en urine peu acide et même souvent alcaline en présence de concentrations élevées d'ions urate et sodium.

Urétéroscopie : technique urologique consistant à extraire ou fragmenter les calculs situés dans l'uretère ou le rein à l'aide d'un endoscope (urétéroscope) introduit par les voies naturelles, sous anesthésie, dans la vessie puis l'uretère, voire le rein.

Weddellite: nom minéralogique de l'oxalate de calcium dihydraté. Cet oxalate de calcium cristallise dans le système quadratique et forme des cristaux octaédriques constitués de deux pyramides aplaties accolées par leur base. Bien que fréquente dans les urines et les calculs, cette forme cristalline est thermodynamiquement assez peu stable et évolue lentement vers la whewellite qui représente la forme thermodynamiquement stable de l'oxalate de calcium.

Whewellite: nom minéralogique de l'oxalate de calcium monohydraté. La whewellite cristallise dans le système monoclinique. Elle représente la forme thermodynamiquement stable et la moins soluble de l'oxalate de calcium. La whewellite a été baptisée ainsi par les minéralogistes en l'honneur de William Whewell, minéralogiste anglais qui fut professeur à l'Université de Cambridge.

Whitlockite : nom minéralogique d'un phosphate de calcium et de magnésium hydraté cristallisant dans le système hexagonal.

Introduction Générale

La lithiase urinaire ou urolithiase, autrefois appelée « maladie de la pierre », désigne la maladie caractérisée par la formation des concrétions appelées “calculs” dans les dans les voies urinaires. Etymologiquement, « Lithiase » vient du grec “*lithos”* et signifie pierre. « Calcul » vient du latin *calculus* (cailloux). Les calculs peuvent se former dans un appareil excréteur autre qu’urinaire. Dans le corps humain, les appareils excréteurs où peuvent se former des calculs sont principalement l'appareil urinaire, les voies biliaires et les canaux salivaires, plus rarement les canaux lacrymaux et le canal pancréatique (Meria P., 2008 ; Moroz *et al*, 2009).

Cette pathologie est connue depuis les temps les plus reculés et s’avère indissociable de l’histoire de l’humanité. En effet, des calculs vésicaux datant d’environ 2500 ans avant Jésus Christ ont été identifiés dans des momies égyptiennes ainsi que dans des tombes précolombiennes d’Amérique du Sud (Tuma J. *et al*, 2001 ; El kabbaj et *al*, 2000 **;** Wilson et *al,* 2010). Des comportements nutritionnels souvent inadaptés aux besoins réels de l’organisme sont la cause de surcharges d’apport qui perturbent les équilibres métaboliques et favorisent l’émergence de pathologies diverses telles que l’hypertension, les maladies cardiovasculaires, le diabète et la lithiase rénale ou biliaire. La lithiase urinaire est une affection de cause multifactorielle, allant du simple défaut d’apports hydriques aux maladies génétiques en passant par les mauvaises habitudes alimentaires engendrant des anomalies d’excrétions urinaires, les uropathies malformatives et les infections (Belhadji *et al*, 2004 ; Girija *et al*, 2007). Il en résulte alors de la cristallisation de certaines substances chimiques dans l’urine. Ces cristaux peuvent à long terme, former un calcul d’une grosseur allant d’un grain de sable à une balle de golf selon leur localisation. Les petits calculs peuvent traverser l’appareil urinaire sans problème, mais les plus gros risquent de bloquer l’écoulement de l’urine ou d’irriter la paroi des voies urinaires.

5 à 10% de la population est touchée par cette pathologie (Ehud *et al*, 2010 ; Fekak *et al,* 2006 ; Daudon M., 2005 ; Mayo, 2009). Elle connait de nos jours une évolution spectaculaire et son étiologie est loin d’être cernée. Plusieurs travaux dédiés à son étude mentionnent des causes liées à des mauvaises habitudes alimentaires, des anomalies génétiques congénitales, des infections urinaires, des anomalies métaboliques et des facteurs d’environnement (Bazin *et al*, 2007 ; Daudon *et al*, 2008). Cependant, le niveau de vie étant étroitement lié à des conditions socio-économiques d’une population donnée (habitudes alimentaires, la boisson et le taux de couverture médicosanitaire, etc.), ces facteurs interviennent également dans le développement des lithiases urinaires.

Aux Etats-Unis et en Europe, l'incidence annuelle des lithiases urinaires est comprise entre 0,1et 0,4%, soit 100 à 400 nouveaux patients lithiasiques par 100000 habitants (Tuma J. et Hess B., 2001). En Suisse, on observe entre 7000 et 28000 nouveaux patients lithiasiques chaque année. La prévalence sur toute une vie est de 8 à 15% en Europe et aux Etats-Unis, mais elle peut atteindre 20% dans des conditions climatiques sèches et chaudes, comme en Arabie Saoudite (Pak C., 1998 ; Tuma J. et Hess B., 2001).

Au Maroc, tout comme au Cameroun, de telles études sont rares. En effet, la comparaison de ces données disponibles dans différents pays atteste une similitude d'évolution et de modifications des lithiases urinaires.

Plusieurs travaux antérieurs montrent que le calcul est la source d'informations irremplaçables sur les conditions de la lithogenèse, les facteurs de croissance, l'activité récente ou ancienne de la lithiase, l'existence de processus particuliers de nucléation hétérogène par cristallisation d'une espèce sur une autre (phénomène d'épitaxie), etc. (Daudon M., 2003 ; EL-Kabbaj *et al*, 2000 ; Daudon M., 2007 ; Otnes, 1983). Une attention toute particulière devrait être apprêtée à son analyse. L'analyse du calcul par des méthodes physiques appropriées, comportant un examen morphologique et une analyse constitutionnelle par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier par exemple, réalisée séquentiellement du noyau à la périphérie, permet de reconstituer son histoire et d'identifier les principaux facteurs biologiques responsables de sa formation. L'analyse morpho-constitutionnelle du calcul permet aussi de détecter rapidement et simplement les composés métaboliques rares ou médicamenteux et d'orienter sélectivement vers les explorations biologiques et les mesures thérapeutiques adaptées à une prévention efficace des récidives et à la préservation de la fonction rénale (Sekkoum K. *et al*, 2011; Yii-Her Chou *et al*, 2011).

Dans le dessein de rechercher le premier diagnostic de la composition du calcul et l'étiologie de la lithiase urinaire, l'étude de la cristallurie et l'analyse morpho-constitutionnelle des calculs par des techniques chimiques et physiques appropriées sont au cœur du présent travail. Le thème soumis à notre réflexion «*Recherche des Paramètres Etiologiques de la lithiase Urinaire*» s'inscrit dans optique la contribution à la meilleure prise en charge des patients lithiasiques et se voudrait d'être utile dans les établissements et centres hospitaliers, privés et publiques ainsi que la prévention des récidives afin de réduire les gros investissements budgétaires à l'état et en particulier aux familles des victimes.

Des progrès considérables réalisés dans le domaine urologique depuis une vingtaine d'années offrent aux chirurgiens un éventail de moyens de moins en moins évasifs pour l'extraction des calculs de l'appareil urinaire. De la lithotritie extracorporelle par onde de choc (LEC) à la néphrolithomie percutanée (NLPC) en passant par l'endoscopie interventionnelle, les urologues disposent aujourd'hui d'une batterie d'appareils et d'instruments dont l'utilisation ne conduit cependant pas toujours à une élimination simple du calcul. Dans bien des cas, le choix stratégique des méthodes à mettre en œuvre est très important pour assurer le succès du traitement avec le minimum de complications. Plusieurs facteurs conditionnent le choix du traitement, mais aussi son succès, notamment la localisation du calcul, le nombre d'éléments, leur taille et leur composition (Zohra *et al*, 1999 ; Bazin D. *et al*, P-BAZ01 ; Arvanitie *et al*, 2009). Il est bien connu aujourd'hui que parmi les calculs d'oxalate de calcium, qui sont de très loin les plus fréquents, les formes dihydratées (weddellite) sont relativement friables et en principe aisément accessibles à la lithotritie extracorporelle (Bon *et al*, 1996, Mohamed Ali *et al*, 2007). En revanche, les formes monohydratées (whewellite) sont beaucoup plus dures et peuvent résister parfois totalement à la fragmentation, quelles que soient les machines utilisées. Même lorsqu'ils se fragmentent, les calculs de whewellite se cassent souvent en gros fragments dont certains ne peuvent s'évacuer spontanément et dont les autres migrent dans l'uretère en déclenchant des coliques néphrétiques nécessitant des gestes complémentaires. Dans ces conditions, il devient utile, pour optimiser le traitement urologique, d'avoir une connaissance préalable de la composition cristalline des calculs, en particulier calciques. La figure 1 ci-dessous illustre un exemple de cas justifiant l'intérêt de la connaissance au préalable des structures morphologiques et cristallines des calculs dans l'orientation du choix d'une méthode appropriée pour son élimination hors des voies urinaires.

Figure 1: Calcul rénal de whewellite ; sous-type morphologique Ia dont la cause est essentiellement nutritionnelle (apport en excès d'oxalate). Notez les traces (flèches) laissées par les impacts des ondes de choc extracorporelles utilisées en première intention

Plusieurs méthodes d'analyse des calculs urinaires ont été expérimentées : L'analyse chimique la plus ancienne et qui ne présentait que 40% de fiabilité du fait qu'elle fournit de faux résultats positifs et ne permet pas de distinguer les phases cristallines d'un même composé chimique (ne permet pas de distinguer les oxalates de calcium monohydraté et dihydraté , d'une part, les phosphates calciques :les apatites, d'autre part, et les acides uriques confondus à la 2,8-dihydroxyadénine) a été supprimée de la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale et remplacée par une analyse morpho-constitutionnelle fondée sur des méthodes physiques beaucoup plus fiables et informatives (Daudon M., 2007). Pour préserver les espèces cristallines constitutives, les méthodes d'analyse utilisées en pratique courante sont des méthodes d'observation, c'est-à-dire des méthodes optiques telles que la stéréomicroscopie binoculaire, la microscopie optique à polarisation, la microscopie électronique à balayage, etc.), les méthodes thermiques gravimétrique et différentielle (ATG/ATD) complétées par des méthodes d'identification des espèces moléculaires et cristallines parmi les quelles, la spectrophotométrie infrarouge moyen à transformée de Fourier (SIR-TF) devenue aujourd'hui la méthode de référence en raison de sa polyvalence, sa rapidité, sa mise en œuvre aisée et sa capacité à identifier simultanément les espèces cristallines et amorphes, les composants minéraux et organiques, les espèces métaboliques et médicamenteuses. En revanche, la spectrophotométrie infrarouge n'est pas toujours une technique d'analyse structurale très précise, ce qui veut dire, lorsqu'elle met en évidence un nouveau corps, non encore décrit dans les calculs (un nouveau médicament par exemple), d'autres techniques d'analyse (la diffraction X, la spectrométrie de masse et/ou la résonance magnétique nucléaire) s'avèrent être nécessaire pour identifier plus précisément la nouvelle substance détectée par l'analyse infrarouge (Daudon M., 2007). Aussi, faut-il signaler que plus de 80% de calculs sont mixtes et les spectres IR complexes à interpréter. Cette phase d'analyse, essentielle mais délicate, nécessite une formation spéciale car les logiciels et les banques de données de données actuellement disponibles sur les spectrophotomètres IRTF n'ont pas une fiabilité suffisante.

Dans notre travail, nous avons mené une étude morpho-constitutionnelle et multi-élémentaire des calculs urinaires par quatre méthodes physiques : la Microscopie Optique à Lumière Polarisée (MOLP) couplée à la Stéréomicroscopie Binoculaire (SMB), la Microscopie Electronique à Balayage (MEB), la spectrométrie de masse couplée au plasma inductif (ICP-MS) et la spectrophotométrie infrarouge moyen à transformée de Fourier (SIR-TF) dans le but de relever les avantages et les limites de chacune d'elles d'une part, et d'autre

part, d'établir une corrélation entre elles pour une analyse globale, optimale et efficace du calcul. Les calculs oxalo-calciques de loin les plus récurrents, l'influence de l'oxalurie et la calciurie, déterminées respectivement par dosage d'oxydoréduction au permanganate de potassium et par complexiométrie à l'EDTA, sur la cristallisation des oxalates de calcium mono- et dihydraté est une partie de ce travail.

Le but principal de ce travail est valoriser le microscope optique à lumière polarisée comme matériel d'analyse de routine des calculs, moins coûteux pour le premier diagnostic et contribuer à la recherche de l'étiologie de l'urolithiase par des analyses morpho-constitutionnelles et multi-élémentaires des calculs et par une étude de la cristallurie.

L'intérêt qu'il revêt comporte plusieurs aspects:

Sur le plan sanitaire: réduire les risques d'exposition aux lithiases par optimisation du traitement et de la prévention des récidives.

Sur le plan scientifique: élaborer un protocole expérimental optimal, efficace et simple d'analyse des calculs pour un premier diagnostic de l'étiologie de la lithiase urinaire.

Sur le plan socio-économique: contribuer à réduire les gros investissements budgétaires alloués à la prise en charge des patients lithiasiques.

Notre travail comporte trois parties principales :

La première est réservée à l'étude bibliographique dans laquelle, les généralités sur la lithiase (épidémiologie et prévalence, types morpho-constitutionnelles des calculs, les méthodes d'analyse et de traitement, la lithogenèse) sont présentées. La deuxième, partie expérimentale, présente les différents matériels et techniques expérimentales utilisés. La troisième est dédiée aux résultats expérimentaux obtenus et les interprétations y afférentes. Une quatrième partie destinée aux discussions et conclusions vient mettre fin à nos investigations.

Chapitre 1

Etude Bibliographique

1.1. Introduction

Les calculs sont le résultat de la cristallisation de sels minéraux et d'acides présents en trop forte concentration dans l'urine. Le processus est le même que celui que l'on observe dans de l'eau contenant beaucoup de sels minéraux : au-delà d'une certaine concentration, les sels commencent à se cristalliser. Les rénaux peuvent être la conséquence d'un grand nombre de facteurs. Le plus souvent, ils sont dus à un manque de dilution des urines, c'est-à-dire à une consommation trop faible d'eau. Une alimentation déséquilibrée, trop riche en sucre ou en protéines, peut également être en cause. Dans bien des cas, on ne retrouve toutefois pas de cause précise pouvant expliquer la formation des calculs. Plus rarement, une infection, certains médicaments, une maladie génétique (comme la fibrose kystique ou l'hyperoxalurie) ou métabolique (comme le diabète) peuvent causer la formation de calculs urinaires. De même, les malformations des voies urinaires peuvent être en cause, surtout chez les enfants. (Meria, 2008 ; Daudon *et al*, 1999).

La littérature rapporte un grand nombre de résultats des travaux consacrés à l'étude de cette maladie durant ces dernières années, de sa genèse à son traitement en passant par son exploration métabolique et clinique par des méthodes de plus en plus moins évasives. La description des caractéristiques étiopathogéniques, l'épidémiologie des lithiases, la genèse des calculs ainsi que leur composition chimique et le traitement de la lithiase feront l'objet de ce chapitre.

1.2. Localisation anatomique des calculs sur l'arbre urinaire

La plus part des calculs se forment initialement dans les reins et suivent le conduit urinaire. Ils se bloquent généralement à 3 niveaux: à la jonction pyélo-urétérale, au croisement de l'uretère et des vaisseaux iliaques, et à la jonction urétéro-vésicale. La plupart d'entre eux s'expulsent spontanément en passant à travers les divers conduits du système urinaire. Dans le cas où les calculs sont suffisamment gros pour bloquer l'uretère (le conduit qui relie le rein à la vessie), ils provoquent de fortes douleurs génériquement appelées *colique néphrétique*. Selon la localisation des calculs sur l'arbre urinaire, on peut distinguer les calculs rénaux (localisés dans les reins), les calculs urétéraux (localisés dans l'uretère) et les calculs vésicaux (localisés dans la vessie). La figure 2 ci-dessous représente les différents niveaux de l'appareil urinaire où peut être localisé le calcul.

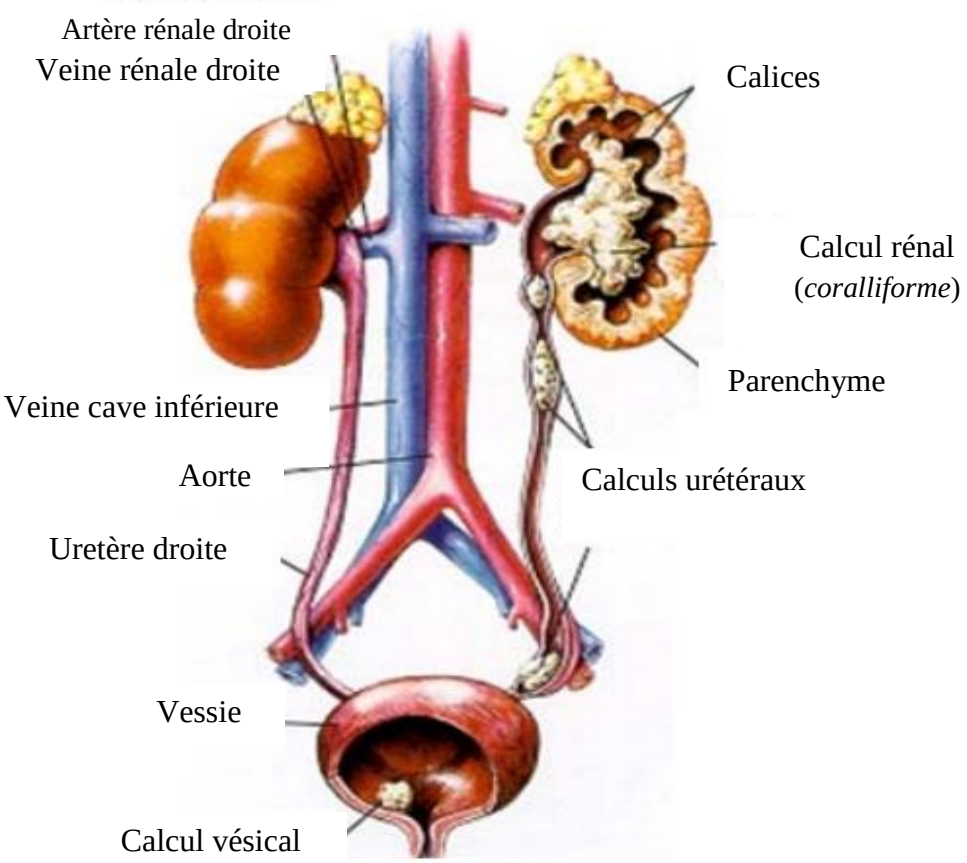


Figure 2 : Localisation anatomique des calculs sur l'appareil urinaire

1.3. Epidémiologie et prévalence des lithiases urinaires

L'épidémiologie des lithiases reflète le niveau socioéconomique et le degré de médicalisation des populations. Les caractéristiques épidémiologiques de la lithiase urinaire sont en perpétuelle évolution et traduisent les modifications dans les habitudes nutritionnelles, les couvertures sanitaires, des facteurs d'environnement ou de la prévalence des pathologies qui prédisposent au risque de lithiase. Elles révèlent des tendances communes à l'échelle mondiale, mais permettent aussi d'extérioriser des liens, parfois méconnus ou sous-estimés, entre la fréquence ou la nature des calculs et des facteurs de risque ou des pathologies particulières dont la prévalence est plus élevée au sein de certains groupes de population comparativement à d'autres. La lithiase appartient à la famille des grandes pathologies telles que l'hypertension artérielle, les maladies cardiovasculaires ou le diabète dans lesquelles les facteurs d'environnement ont un rôle majeur (Daudon *et al*, 2008 ; Bazin D. *et al*, 2007). L'analyse des données épidémiologiques est essentielle pour mieux évaluer les évolutions de

la maladie lithiasique et ses relations avec les pathologies ou les facteurs de risque impliqués dans son développement.

Dans les pays industrialisés, la lithiase urinaire touche environ 10 % des adultes (Daudon M., 2005 ; Fekak *et al,* 2006 ; Ehud *et al,* 2010). La plupart des calculs sont de localisation rénale et l'oxalate de calcium en est souvent le constituant majoritaire. Toutes les études récentes confirment sa progression. Celle-ci, particulièrement nette au cours des 30 dernières années, tient essentiellement à l'évolution du niveau socioéconomique et aux modifications du mode de vie et des habitudes alimentaires. Sur 2 millions de porteurs de calcul en France, chaque année, 5 à 10 % de patients sont symptomatiques par des coliques néphrétiques (Bazin D. *et al,* 2010 ; Daudon M., 2005). Aux Etats Unis, la prévalence est de 7 à 21 cas pour 100 000 habitants (Meria, 2008). De plus, la lithiase récidive dans près de 50 % des cas, avec un risque statistique plus élevé dans les 5 premières années suivant la découverte du premier calcul. Au Japon, l'étude réalisée sur la prévalence et les caractéristiques épidémiologiques des calculs urinaires par Takahiro Yasui et ses collaborateurs en 2008 rapportent une incidence ayant connu une croissance qui est passée de 4,7% en 1965 à 9,1% en 2005 ; les personnes dont l'âge est supérieur à 60 ans étant les plus affectées (Takahir Y. *et al,* 2008). En Allemagne, les travaux de Thomas Knoll rapportent une prévalence d'environ 750 000 cas par an avec une prédominance de lithiase oxalocalcique supérieure à 80% pour un ratio homme/femme de 2,7. Cependant, une hétérogénéité d'étiologie est notée d'une région à l'autre : une prédominance de lithiases uriques au Sud et une prévalence significativement élevée de lithiases d'infections dans la partie Est du pays (Knoll T., 2010).

Dans les pays non industrialisés, malgré la rareté des travaux dans ce domaine, les observations sont similaires. 1042 calculs collectés entre 1991 et 2000 dans 14 pays ou zones géographiques différentes : Afrique noire (Cameroun, Mali, Sénégal), Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie), Amérique du Sud (Brésil, Paraguay), Asie mineure (Pakistan, Turquie), Extrême-Orient (Chine, Laos, Vietnam) et en Polynésie française (Tahiti) ont fait l'objet d'une analyse spectrophotométrique infrarouge par l'équipe de recherche du professeur Michel Daudon et les résultats comparés à ceux de 24706 calculs recueillis en France au cours de la même période et analysés selon le même protocole (Daudon M. *et al,* 2004). Globalement, la proportion des calculs d'oxalate de calcium est la même chez l'adulte en France et dans les pays en développement (soit, en France : hommes : 75,7% et femme : 59,8% contre 72% pour l'homme et 56,3% pour la femme dans les pays en voie de

développement). Elle est en revanche plus élevée chez les enfants des pays non industrialisés (garçons : 52,6% dans les pays non industrialisés contre 31,8% en France ; filles : 67,8% contre 48,8% en France). La fréquence des calculs phosphocalciques est particulièrement faible chez les garçons des pays en développement (8,3% contre 45,1% en France) et celle des purines plus élevée chez les garçons (21,3% contre 5,2% en France) comme chez les filles (13,6% contre 4,3% en France).

Des différences sont observées selon les continents et les régions : la struvite est présente dans 42,9% des calculs chez la femme en Afrique noire contre 13% en Amérique du Sud et 2,7% en Asie mineure. Les purines sont 4 fois plus fréquentes chez l'homme tahitien que chez l'homme du Maghreb. Les phosphates calciques sont 10 fois moins fréquents chez l'homme d'Asie mineure que chez l'homme d'Extrême-Orient.

En fait, la comparaison des données disponibles dans différents pays confirme une similitude d'évolution. Concrètement, les modifications les plus évidentes de la pathologie lithiasique à l'échelle mondiale portent sur trois points :

- Le premier est l'âge des sujets affectés par la lithiase : au sein des populations dont le niveau socioéconomique est faible, la lithiase touche essentiellement les enfants, avec un rapport garçons/filles très élevé, couramment supérieur à 10 et pouvant même dépasser 20 dans certains cas. À l'inverse, dans les pays industrialisés, la lithiase urinaire affecte aujourd'hui essentiellement les adultes de la 3ème à la 7ème décennie avec un rapport hommes/femmes (H/F) généralement compris entre 1,5 et 2,5 et se situant même au-dessus de 2,5 aujourd'hui aux États-Unis, comme le suggèrent certaines études récentes (Daudon M. *et al,* 2008).
- Le second point important est la localisation anatomique initiale des calculs, qui est plutôt vésicale au sein des populations de faible niveau socioéconomique et essentiellement rénale dans les populations de niveau socioéconomique moyen ou élevé (Daudon M. *et al,* 2008).
- Enfin, la nature des calculs est différente, essentiellement phosphatique ou urique (et uratique) dans les populations à faible revenu, et en revanche largement dominée par l'oxalate de calcium dans les pays industrialisés et les populations de niveau de vie élevé **(**Daudon M. *et al,* 2008**).** Toutefois, il faut signaler qu'aujourd'hui, l'oxalate de calcium tend à dominer dans toutes les populations indépendamment du niveau d'industrialisation.

1.3.1. Facteurs épidémiologiques

Les études ont montré que les facteurs d'environnement et les facteurs intrinsèques sont en rapport avec l'urolithiase dans les populations (Fatemeh Shirazi *et al*, 2009). Des facteurs environnementaux (géographiques, climatiques, saisonniers), les activités physiques, les habitudes alimentaires (hyperoxalurie) et certains médicaments (triamtérène et indinavir) ont un rôle probable dans l'épidémiologie de la maladie lithiasique. Il en est de même des facteurs intrinsèques (âge, sexe, ethnie, race, hérédité et antécédents familiaux, anomalies anatomiques et métaboliques, etc.)

1.3.1.1. Facteurs intrinsèques

1.3.1.1.1. Âge et Sexe

Il est connu depuis longtemps que l'homme est plus exposé que la femme au risque de lithiase de l'appareil urinaire. Actuellement, en France, le rapport H/F est de l'ordre de 2,4 hommes pour 1 femme avec un pic de fréquence entre la 3ème et la 6ème décennie. Plusieurs travaux rapportent une prévalence de lithiase environ deux fois plus élevée chez l'homme que chez la femme (Daudon M., 2008 ; Zidane *et al*, 2000 ; Fekkak *et al*, 2006 ; Daudon M. *et al*, 1999). Cependant, sa prédilection avec le sexe dépend dans certains cas particuliers du type de calcul : trois hommes pour une femme pour les calculs calciques, les calculs phosphatiques et particulièrement le phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (la struvite) ont une tendance plus élevée à se développer chez la femme (Daudon M. *et al*, 2011).

L'âge de prédilection des lithiases se situerait entre 30 et 50 ans, avec un pic au cours de la 3ème décennie. Chez les sujets âgés, les complications sont plus fréquentes. Toute fois dans les pays industrialisés, la lithiase urinaire touche essentiellement les adultes de troisième et de la septième décennie (Veena *et al*, 2004 ; Daudon M., 2008a).

1.3.1.1.2. Facteurs ethniques et raciaux

Un facteur ethnique, vraisemblablement en rapport avec les traditions alimentaires a été décrit ; les sujets eurasiens présentent en effet un taux plus élevé de lithiases urinaires que les sujets de race noire ou les indiens d'Amérique (Daudon M., 1998). Les populations noires d'Afrique et asiatiques font relativement peu de calculs. Mais si ces sujets sont soumis à une

alimentation européenne, l'incidence lithiasique augmente, et ceci tend à prouver qu'il s'agit plus d'un facteur exogène (environnement, alimentaire) que d'un facteur génétique.

1.3.1.1.3. Facteurs héréditaires et familiaux

Les lithiases rénales héréditaires à transmission monogénique, qui dépendent uniquement de facteurs génétiques, sont beaucoup plus rares que les lithiases calciques ou uriques communes qui dépendent à la fois de facteurs innés et de facteurs environnementaux, notamment les facteurs nutritionnels. De ce fait, elles relèvent de deux mécanismes principaux :

- **Erreurs innées du métabolisme**

Elles sont caractérisées par une anomalie enzymatique responsable d'un excès de production d'un métabolite dont l'excrétion urinaire entraîne la cristallisation. À ce groupe appartiennent les anomalies enzymatiques de la voie des purines conduisant à la cristallisation de l'acide urique, de la xanthine ou de la dihydroxyadénine et des anomalies enzymatiques responsables d'une hyperproduction d'oxalate. Leur conséquence est la formation de calculs récidivants, mais aussi une infiltration du parenchyme rénal conduisant à la détérioration progressive de la fonction rénale. L'hyperoxalurie primaire, maladie autosomique récessive rare (1/120 000), s'individualise par sa sévérité. Elle est responsable de lithiase rénale particulièrement récidivante et souvent de néphrocalcinose et d'insuffisance rénale parfois terminale. Elle peut récidiver après transplantation et détruire un greffon rénal. Les calculs sont d'oxalate de calcium monohydraté (whewellite), dont la morphologie très particulière (type Ic) peut orienter le diagnostic. Elle se caractérise par une hyperoxalurie majeure, souvent supérieure à 1,5 mmol/j (Daudon *et al*, 2011) et donc supérieure à celle rencontrée dans les hyperoxaluries entériques.

- **Tubulopathies congénitales**

Les anomalies des transporteurs membranaires entraînent des altérations des mécanismes de réabsorption du calcium, du phosphore, du magnésium ou des aminoacides dibasiques. La cystinurie, la plus fréquente de ces tubulopathies, correspond à une altération du transporteur membranaire de la cystine dans le tube proximal. Elle est responsable de lithiases multi-récidivantes et, souvent, d'une altération de la fonction rénale qui évolue rarement vers l'insuffisance rénale terminale (IRT). La lithiase cystinique représente environ

0,5 % de l'ensemble des lithiases de l'adulte et 5 à 10 % de celles de l'enfant. À elle seule, la cystinurie représente environ 80 % de l'ensemble des maladies lithiasiques monogéniques. Son traitement repose sur l'hyperdiurèse (> 3 L/j) et l'alcalinisation des urines (pH > 7) et, dans les cas les plus sévères, sur les chélateurs sulfhydrylés. Les fuites rénales de phosphate (par défaut structurel ou fonctionnel des transporteurs au niveau tubulaire rénal) exposent à l'hyperphosphaturie et parfois à l'hypercalciurie absorptive favorisée par des taux élevés de 1,25-$(OH)_2$ vitamine D3 (Daudon *et al*, 2011). Les lithiases phosphocalciques (ou mixtes, oxalo-phosphocalciques) sont surtout favorisées par les supplémentations en phosphore et en vitamine D prescrites pour protéger l'os. Une surveillance de la calciurie des 24 heures, des urines du matin (< 3,8 mmol/L), ainsi que de la cristallurie permet de limiter le risque. Chez l'adulte, il n'est probablement pas nécessaire de corriger complètement la phosphorémie et ainsi de limiter les apports en vitamine D et en phosphore (Jungers *et al*, 2008 ; Daudon M. *et al.*, 2008b ; Milliner *et al.*, 1994).

1.3.1.1.4. Facteurs anatomiques

Certaines anomalies anatomiques des reins ou de la voie excrétrice favorisent la stase des urines et donc la formation de calcul. C'est le cas du diverticule calicielle, Syndrome (Sd) de la jonction pyélo-urétérale, mégacalicose, adénome ou cancer (Kc) de la prostate, sclérose du col vésical, vessie neurologique, etc (Milliner *et al*, 1994).

1.3.1.2. Facteurs d'environnement

1.3.1.2.1. Facteurs climatiques et saisonniers

Des facteurs environnementaux sont également probables : plus fréquentes durant les mois d'été, les lithiases se retrouvent plus souvent chez les sujets sédentaires et exposés à la chaleur. Bien que plusieurs études menées sur des registres médicaux et des cas d'hospitalisations ne mentionnent aucune variation saisonnière dans l'épidémiologie de la lithiase urinaire, d'autres ont relevé une variation saisonnière importante. Dans l'une des études récentes en Arabie Saoudite réalisée sur une base de données de 80,951ED (Veena *et al*, 2004) concernant 447 cas de colique rénale, la fréquence des visites était plus significative dans les mois chauds (Juin, juillet, et août). En effet, les chaleurs estivales entraînent une forte déperdition hydrique jouant un rôle important dans la sursaturation des urines en favorisant la formation des calculs dans l'arbre urinaire. La déshydratation joue un rôle important dans la précipitation des cristaux par sursaturation des urines. Pour les populations des pays tempérés,

l'incidence va augmenter lors des saisons chaudes ou à l'occasion de voyages dans les pays chauds.

1.3.1.2.2. Facteurs géographiques et socio-professionnels

A partir du 20ème siècle, l'expansion de la lithiase est devenue la rançon de la société d'abondance. Le niveau de vie et les habitudes alimentaires ont connu une amélioration remarquable. Dans les pays industrialisés et ceux en voie de développement, la consommation moyenne de sel, de protéines animales, de matières grasses et de sucres raffinés a augmenté respectivement de 3, 5, 10 et 20 fois en un siècle (Laziri F. *et al*, 2009). Il a été également mentionné un parallélisme entre la lithiase oxalo-calcique et la consommation des protéines carnées, l'élévation générale du niveau de vie, l'occidentalisation du mode de vie et l'alimentation (Junjers *et al,* 2008). Vu l'hétérogénéité de ces facteurs, la distribution des lithiases tant sur le plan étiologique qu'épidémiologique varie d'une région à une autre. La sédentarité et l'exposition à la chaleur sont des facteurs de risques supplémentaires : certaines catégories de travailleurs sont particulièrement exposés : cuisiniers, marins et fondeurs qui sont soumis à des phénomènes de déshydratation ; mais aussi des professions citadines stressantes avec un dérèglement alimentaire et une insuffisance d'apport en boissons.

1.3.1.2.3. Facteurs de risque nutritionnels

L'augmentation explosive de la fréquence de la lithiase oxalocalcique en quelques décennies ne peut s'expliquer par des facteurs génétiques. Elle suggère, en revanche, le rôle majeur de la modification des facteurs d'environnement, notamment des facteurs nutritionnels. Il est frappant de constater que l'évolution des habitudes alimentaires et, tout particulièrement, l'augmentation de la consommation des protéines animales, coïncide avec l'augmentation de la fréquence de la lithiase oxalocalcique. Toutes les enquêtes épidémiologiques montrent que l'alimentation est l'un des principaux facteurs modulant le risque de formation des calculs urinaires. Il est admis que la grande majorité des lithiases relève d'anomalies métaboliques urinaires induites par des comportements nutritionnels inadaptés chez des sujets présentant une sensibilité particulière aux facteurs nutritionnels, probablement d'origine génétique, comme le suggère la fréquence des antécédents familiaux de lithiase et les anomalies biochimiques lithogènes identifiées chez les membres de familles comportant plusieurs sujets lithiasiques (Meria, 2008). Cependant, aucune étude n'a encore apporté la preuve convaincante de l'implication de tel ou tel gène dans le risque de faire une

lithiase calcique, même si quelques études récentes ont montré des relations positives entre tel profil génétique et l'existence d'une anomalie biologique urinaire pouvant favoriser la formation de calculs ou le fait d'être lithiasique.

1.3.1.2.4. Facteurs diététiques particuliers.

- **Viande et poisson**

Un apport excessif en protéines d'origine animale (viande et poisson) élève le risque de formation de calculs en augmentant l'acidité (diminution du pH) de l'urine, en accroissant l'excrétion rénale d'oxalate, de calcium et d'acide urique, et en diminuant celle de citrate ; facteur de protection contre la formation de calculs. C'est la raison pour laquelle il convient de réduire la consommation de ces aliments en cas de calculs calciques et de calculs d'acide urique. En règle générale il est recommandé de ne pas dépasser une portion de viande par jour et une totalité de cinq portions de viande de 120 g par semaine. Il est cependant déconseillé d'adopter un régime végétarien car cela entraîne souvent une trop grande consommation d'acide oxalique. Il n'y a cependant aucune contre-indication à l'introduction de journées végétariennes occasionnelles.

- **Mauvaise hydratation**

Boire est un geste indispensable pour les patients atteints de calculs rénaux. Boire peu diminue le volume d'urine, donc augmente la concentration de l'urine en sels favorisant la formation des cristaux. Il est recommandé aux patients atteints de calculs rénaux de boire au moins 2,5 à 3 litres par jour. La quantité d'urine émise par jour devrait s'élever à au moins 2 litres. Il convient d'adapter l'apport en liquide en cas de forte transpiration ou d'effort physique important (travail lourd, sport de haute intensité, etc.) de manière à ce que la quantité d'urine soit suffisante. Il est aussi important de répartir la prise de liquides sur toute la journée. Aussi est-il essentiel de boire avant de se coucher. (Une urine nocturne très concentrée favorise la cristallisation et la formation de calculs). Des boissons sans calorie telles que l'eau du robinet et l'eau minérale se prêtent merveilleusement à ce moment de la journée. Tandis qu'une eau minérale riche en bicarbonates et le jus d'agrumes prévient la formation de calculs, de grandes quantités d'infusion de menthe, de thé noir, de thé glacé (riche en acide oxalique) ou de bière la favorisent. La consommation de bière augmente l'élimination d'acide oxalique et d'acide urique. Les boissons contenant de la caféine sont

également à consommer avec modération (Hess, 2001 ; Heinrich K., 2001 ; Bazin D. *et al,* 2007).

- **Fruits, légumes et fruits oléagineux**

Les légumes et les fruits augmentent la concentration en citrate dans les urines, ce qui inhibe la synthèse de cristaux. Mais la consommation de denrées riches en acide oxalique (les épinards, la rhubarbe, les betteraves rouges, le cacao, le chocolat et les fruits oléagineux par exemple) devrait être limitée ou accompagnée d'aliments riches en calcium (épinards gratinés au fromage par exemple). L'acide oxalique et le calcium forment un complexe au niveau de l'intestin, ce qui diminue l'absorption intestinale des oxalates et évite ainsi une augmentation du taux d'acide oxalique dans les urines. Il est à souligner que le calcium complexé est également éliminé dans les selles. Pour assurer un apport suffisant en calcium, il convient de consommer du lait, des produits laitiers ou autres sources de calcium sans les accompagner d'aliments riches en acide oxalique (Heinrich K., 2001).

- **Lait et produits laitiers**

Contrairement aux idées antérieures, il n'est aujourd'hui recommandé de limiter l'apport en calcium, particulièrement en cas de calculs d'oxalate (à moins que le calcium ne soit éliminé dans les urines en quantités considérables). Le calcium d'origine alimentaire (produits laitiers, poissons en conserve avec les arêtes, les fruits, les légumes vertes, les légumineuses, les noix) exercerait un effet protecteur contre les calculs rénaux. Des études ont montré que le risque de formation de calculs est moindre lors d'un apport en calcium d'environ 1000 à 1200 mg par jour. La limitation globale de l'apport en calcium recommandée par le passé, indépendamment du type et de la cause du calcul, s'est révélée être défavorable. En fait un apport en calcium inférieur à 800 mg/jour augmente l'excrétion rénale d'acide oxalique, ce qui renforce le risque de formation de calculs. De plus, un apport limité en calcium à long terme renforce le risque d'ostéoporose (fragilisation des os). Il est donc conseillé de consommer 1000-1200 mg de calcium par jour, valeur qui correspond à celles recommandées aux adultes sains. Le calcium devrait, dans la mesure du possible, être pris dans le cadre des repas (Hess, 2001 ; Société Suisse de nutrition, 2008).

- **Sel de cuisine**

Le sodium contenu dans le sel de cuisine favorise l'élimination de calcium dans les urines et influence directement la formation de cristaux calciques. La consommation de sel de cuisine devrait se limiter à 4-6 g/jour. Elle ne devrait cependant pas être inférieure, car une réduction supplémentaire de l'apport en sel mènerait à une diminution du volume des urines (Société Suisse de Nutrition, 2008).

- **Douceurs**

Des études indiquent qu'une forte consommation de produits sucrés, et en particulier de boissons édulcorées au fructose, favorise la formation de calculs. Il a aussi été établi que les produits contenant du cacao sont riches en acide oxalique et devraient par conséquent être consommés avec beaucoup de modération par les personnes souffrant de calculs oxaliques. Il est à noter que le fructose absorbé naturellement en consommant des fruits et des légumes n'a aucun effet négatif (Straub M. *et al*, 2004).

- **Surpoids**

Les personnes en surpoids sont plus sujettes aux calculs rénaux que les autres car leurs urines sont généralement acides, ce qui favorise la précipitation de l'acide urique. Les personnes en surpoids qui désirent perdre du poids doivent procéder de manière lente et suivie car les régimes qui provoquent une perte de poids rapide peuvent augmenter le taux d'acide urique, favorisant ainsi la formation de calculs d'acide urique (Hess B., 2001 ; Ernährungsinformation der CMA 03/2007, Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000).

- **Prise de certains médicaments**

Prendre des diurétiques ou des antiacides à base de calcium, par exemple, peut faire augmenter le risque de développer les calculs rénaux. Les personnes à risque devraient s'informer auprès de leur médecin ou de leur pharmacien au sujet de leur médication.

1.4. Types de lithiases et composition chimique des calculs

La composition chimique des calculs de l'appareil urinaire est connue depuis plus de deux siècles. En effet, c'est en 1776 que le Suédois Karl Wilhelm Scheele identifia le premier constituant des calculs : l'acide urique. En l'espace de 20 ans, la plupart des constituants

chimiques des calculs furent identifiés grâce aux travaux conjoints ou parallèles de scientifiques européens comme Bergmann en Suède, Fourcroy et Vauquelin en France, Wollaston et Marcet en Angleterre, ou encore Tychsen au Danemark. Dès 1817, on connaissait non seulement l'acide urique et l'urate d'ammonium, l'oxalate de calcium, le phosphate de calcium, le phosphate ammoniacomagnésien, mais aussi des composants métaboliques plus rares comme la xanthine et la cystine (Daudon M. et Doré B., 1999).

Par une analyse des corrélations entre la composition chimique et la morphologie des calculs, d'une part, les étiologies associées, d'autre part, et ceci sur de grandes séries, l'on a pu établir une clé faisant correspondre à chaque type de calcul ses causes (Bazin D. *et al,* 2007 ; Daudon M. *et al,* 1993 ; Daudon *et al,* 1995). Ainsi, la connaissance de la composition chimique d'un calcul permet de remonter son historique et d'en déduire le type de lithiase correspondant. Les substances chimiques les plus fréquemment rencontrées sont par ordre de fréquence décroissante sont: les oxalates de calcium, les phosphates calciques et ammoniaco-magnésiens, les acides uriques et urates, les protéines diverses, la cystine. Deux grandes familles chimiques sont à distinguer : les lithiases organiques et les lithiases minérales.

1.4.1. Lithiases Organiques

1.4.1.1. Lithiase de 2,8-dihydroxyadénine

Cette lithiase particulièrement rare est due à un déficit héréditaire d'un enzyme ; l'adénine phosphoribosyltransférase (APRT). Dans le cas normal, l'adénine résultant du catabolisme des purines est recyclée en acide adénilique par l'action de l'enzyme APRT. Chez l'individu homozygote pour la déficience en APRT, cette transformation n'a pas lieu et une partie de l'adénine est oxydée par l'action de la xanthine oxydase. Le produit de cette oxydation (2,8-dihydroxyadénine) est éliminé par le rein, mais sa très faible solubilité le fait cristalliser dans les voies urinaires et provoque la formation de calculs, avec un risque d'aboutir à une insuffisance rénale terminale (IRT) (Simmonds, 1986).

L'expressivité de la déficience chez les homozygotes est assez variable. Certains individus restent asymptomatiques, alors que la majorité souffre de lithiases récidivantes dès la petite enfance. Les hétérozygotes ont un taux sanguin d'APRT réduit à environ 25% du taux normal. A part quelques rares exceptions, l'état hétérozygote ne s'accompagne pas de lithiase.

Si l'identification de la 2,8-dihydroxyadénine en spectrophotométrie infrarouge est évidente, les méthodes chimiques (kits) la confondent avec l'acide urique. Cette confusion est

probablement à l'origine de l'identification erronée des premiers calculs d'acide urique (Graf J. D. *et al*, Revue Médicale Suisse, numéro 2289). Contrairement à la lithiase d'acide urique, celle de 2,8-dihydroxyadénine ne peut pas être traitée par alcalinisation des urines, étant donné que la solubilité de cette dernière reste très basse dans la zone de pH comprise entre 5 et 8. En revanche, l'administration d'allopurinol, accompagnée d'une bonne hydratation et de mesures diététiques (régime ovo-lacto-végétarien) permet de prévenir les récidives (Jungers P. *et al*, 1989 ; Hesse *et al*, 1997).

1.4.1.2. Lithiase de cystine

Ils sont rares et ne représentent qu'un pourcent (1%) des calculs. Comme dans le cas de la dihydroxyadénine, la découverte d'un calcul de cystine permet de poser le diagnostic d'une maladie héréditaire. La cystinurie, due à un défaut de réabsorption tubulaire de la cystine (et des acides aminés dibasiques), peut rester ignorée pendant des décennies, et n'être révélée que par une première crise lithiasique. Il est alors essentiel que le calcul soit correctement identifié, même si la cystine y coexiste avec d'autres composants. La lithiase cystinique se caractérise par un taux élevé de récidive, et peut entraîner des complications sévères telles que l'obstruction, l'infection ou l'IRT (Jungers *et al*, 1989).

Outre l'analyse du calcul et la recherche de cristaux dans le sédiment urinaire, le diagnostic de cystinurie est établi (ou confirmé) sur la base du taux urinaire de cystine. L'état hétérozygote, qui se caractérise par un taux intermédiaire entre l'état normal et l'état homozygote mutant, n'aboutit que rarement à la formation de calculs de cystine. Les récidives lithiasiques peuvent être prévenues par une diurèse abondante, une alcalinisation des urines, un régime appauvri en méthionine et, si nécessaire, un traitement par un composé sulfhydrylé (a-mercaptopropionylglycine, D-pénicillamine).

1.4.1.3. Lithiases urique et uratique

5 à 10% des lithiases rénales sont provoquées par des calculs d'acide urique, cette prévalence pouvant aller jusqu'à 50% dans les pays chauds (baisse du débit urinaire). Le calcul est composé uniquement d'acide urique dans 80% des cas; les calculs mixtes sont de calcium-oxalate ou calcium-phosphate entourant un nid central d'acide urique (Daudon M. *et al*, 1995). Le rôle du pH urinaire est essentiel dans sa lithogenèse : L'acidité fait passer l'urate relativement soluble en acide urique insoluble à pH acide : à pH 7, 95% de l'acide urique est sous forme d'urate soluble, et à pH 5 tout l'acide urique est présent à l'état non ionisé

insoluble. Or, chez les sujets atteints de lithiase urique, le pH urinaire reste le plus souvent dans des valeurs acides tout au long du nycthémère. Le mécanisme exact de cette modification n'est pas élucidé, probablement en rapport avec une diminution de la sécrétion d'ammoniac, le pH étant plus acide pour équilibrer le bilan des protons (Pak C. *et al*, 2001). Tout facteur favorisant l'acidité des urines va favoriser la lithiase urique, en particulier la déshydratation qui augmente la réabsorption des bicarbonates au niveau du tube proximal. En dehors de cette anomalie concernant le pH urinaire, les 3/4 de lithiases uriques surviennent chez des sujets sans autre anomalie métabolique (Pak c. *et al*, 2001 ; Jungers P. *et al*, 1989 ; Riese *et al*, 1992).

Les circonstances de sa découverte sont multiples : colique néphrétique, émission spontanée de calculs ou de sable rougeâtre, hématurie macroscopique, rarement anurie calculeuse, insuffisance rénale chronique (IRC). Le calcul d'acide urique pur est radio-transparent. L'urographie intraveineuse (UIV) montre des images par défaut ou d'amputation, d'où l'intérêt de compléter le bilan par une échographie et un scanner qui éliminent une tumeur. Les dosages d'uricémie, uricurie, pH urinaire orienteront le diagnostic, affirmé par l'analyse du calcul. Dans les cas de lithiase urique idiopathique, on retrouve le même profil biochimique que dans la goutte primitive : uricémie significativement plus élevée que dans un groupe contrôle, acide urique urinaire et excrétion fractionnelle d'urate significativement abaissé, pH urinaire abaissé (< 5,5), toutes modifications justifiant le concept de diathèse goutteuse, la lithiase étant la manifestation de la goutte primitive (Pak C. *et al*, 2001).

La lithiase urique est une lithiase médicalement curable. L'efficacité du traitement repose sur les éléments suivants :

- régime pauvre en purines : abats (ris de veau, foie, rognons, cervelle) certains poissons (saumon, anchois, sardines), chevreuil, bière, alcalinisation des urines : Le pH doit être maintenu entre 6,5 et 7, un pH supérieur favorisant la précipitation phosphocalcique. Le citrate de potassium (60 meq/j) est l'agent de choix. L'alcalinisation peut se faire par le bicarbonate de sodium sous forme de cachets ou apporté par l'eau de Vichy Saint -Yorre ou Célestin (4 g de bicarbonates/L), mais l'apport sodé provoque la formation de cristaux d'urate de sodium, qui peuvent faciliter la formation de calculs d'oxalate de calcium,

- allopurinol (300 mg/j) si l'uricurie n'est pas contrôlée par le régime (Pak C. *et al*, 2001).

1.4.2. Lithiases minérales

1.4.2.1. Lithiases oxalocalciques

La lithiase oxalocalcique est de loin la plus fréquente dans tous les pays. Les oxalates de calcium sont des constituants majoritaires dans 80 % de tous les calculs urinaires et sont radio-opaques (Meria P., 2008). Les nombreuses recherches qu'elle a suscitées ont fini par produire une image relativement claire de cette pathologie complexe. Multifactorielle par excellence, la lithiase oxalocalcique dépend à la fois de facteurs prédisposants, probablement génétiques, de facteurs nutritionnels, et de leurs interactions (Jungers P. *et al,* 1989 ; Jungers P. *et al,* 1993). Cette évolution des connaissances a permis de corriger certaines erreurs passées résultant de la prise en compte d'un seul facteur.

Parmi les principales formes cristallines de l'oxalate de calcium, deux sont plus fréquentes :

- L'oxalate de calcium monohydraté de nom minéralogique ″ whewellite″ (du nom du professeur William Whewell 1794 - 1866), cristallisé dans un système monoclinique. Les calculs d'oxalate de calcium monohydradé sont généralement de couleur brunâtre, lisse, de petite taille, les plus fréquents et sont oxalo-dépendants.

- L'oxalate de calcium dihydraté ou ″ weddellite″ (du nom de la mer de weddel qui entoure les îles Malouines, à l'est de l'argentine), cristallisé dans un système quadratique, les calculs d'oxalate de calcium dihydraté sont de couleur jaunâtre, spiculé, de grande taille et sont dits calcium-dépendants. La whewellite et la weddellite ont des distributions très différentes dans les calculs selon le sexe et l'âge des patients. Chez l'homme, la weddellite prédomine entre 20 et 30 ans, alors que la whewellite est prépondérante entre 30 et 80 ans, l'acide urique devenant le composant principal des calculs au-delà de 80 ans (Meria, 2008 ; Srinivasan *et al,* 2005).

La grande majorité des lithiases oxalocalciques est classée dans la catégorie dite idiopathique. Parmi les facteurs importants pour la genèse de ces lithiases, l'hyperoxalurie, l'hypercalciurie, l'hyperuricurie, l'hypocitraturie et l'acidité urinaire sont tous dépendants de facteurs nutritionnels, plus particulièrement d'une alimentation riche en protéines animales et pauvre en fibres (Hess *et al,* 1995). Cependant, la réponse de la calciurie à un apport protidique élevé (calculé à partir du débit de l'urée urinaire) semble être plus marquée chez les lithiasiques hypercalciuriques que chez les témoins (Hess *et al,* 1998 ; Jungers P. *et al,* 1993),

suggérant que les habitudes alimentaires ne font que révéler une prédisposition propre à cette catégorie de patients. Paradoxalement, une augmentation de l'apport alimentaire en calcium, dans certaines limites, semble diminuer le risque de lithiase oxalocalcique (Bazin D. *et al,* 2007 ; Curhan, 1997). Les calculs d'oxalate de calcium comprennent parfois les deux formes cristallines (mono- et dihydratée), ce qui peut être expliqué par l'action de plusieurs facteurs dont l'expression varie au cours du temps (Daudon M., 1995).

1.4.2.2. Lithiases phosphocalciques

Le phosphate de calcium précipite sous une dizaine de formes cristallines, certaines fréquentes, d'autres rares : brushite, apatites, phosphates amorphes de calcium, phosphate octocalcique, etc. (Daudon M., 1987). Si l'origine infectieuse est exclue, un calcul de phosphate de calcium pur ou majoritaire (associé à l'oxalate de calcium) permet d'orienter le diagnostic vers une lithiase calcique secondaire, résultant d'une acidose tubulaire, d'une hyperparathyroïdie primaire ou d'un défaut de réabsorption tubulaire des phosphates (Graf J.D. *et al,* Revue Médicale Suisse Numéro : 2289).

- **La brushite, ou phosphate acide de calcium dihydraté**, se forme généralement en urine acide. Rare dans les urines des sujets normaux, elle parait sensiblement la plus fréquente dans les urines des lithiasiques hypercalciuriques. Lorsque la cristallurie est très abondante ou/et répétée, il est conseillé de rechercher une hyperparathyroïdie (Daudon M., 1987).

- **Les phosphates amorphes (plus ou moins carbonatés, PACC)** sont les témoins d'une sursaturation souvent importante en ions phosphates. Cette sursaturation est largement dépendante du pH. Les phosphates amorphes s'observent à des valeurs de pH voisines de la neutralité ou franchement alcalines (Daudon M., 1987). Ces espèces sont liées à un contexte d'infection.

- **la carbonate-apatite ou carbapatite,** encore appelée **dahllite** par les minéralogistes et aussi le **phosphate octocalcique** sont les espèces cristallines les plus fréquentes. Il n'existe pas une, mais de nombreuses formes d'apatite, de formules complexes et non stœchiométriques $Ca_{10-x+y}\ M_{x-y}\ (PO_4)_{6-x}\ (OH)_{2+2y-x}\ (CO_3)_x\ A_{x-2y}$, nH_2O (où M est un autre cation Mg^{2+} ou K^+ par exemple, A est un autre anion Cl^- ou F^-) (Bazin D. et al, 2007). Elles sont caractérisées par un rapport Ca/P compris entre 1,4 et 1,66 et par l'incorporation à la maille cristalline d'un nombre variable d'ions carbonates (CO_3^{2-}) en substitution de

groupements OH (carbapatites de type A) ou PO_4 (carbapatites de type B). Dans les calculs, on observe essentiellement des carbapatites mixtes de type A-B à taux de carbonate, selon le pH de l'urine et sa teneur en bicarbonates, compris entre 0,5 et 25 %, et dont la prise en considération peut orienter le clinicien vers des processus lithogènes particuliers. La carbapatite est extrêmement fréquente puisqu'elle est détectée par infrarouge dans près de 80 % des calculs (Daudon M. et Doré B., 1999).

1.4.2.3. Lithiase de phosphate ammoniacomagnésien

La **struvite** est plus rare actuellement du fait de la meilleure prise en charge de l'infection. Dans les années cinquante, les calculs infectieux représentaient 20 à 30 % des lithiases en France. Aujourd'hui, la proportion de calculs de struvite varie entre 4 et 10% (El Kabbaj *et al,* 2000 ; Laziri F. *et al,* 2009 ; Samira C. *et al,* 2010 ; Alaya *et al,* 2009). Les femmes sont trois fois plus touchées que les hommes. La proportion de calculs de struvite est de 10 % chez les femmes avec un pic de fréquence maximum entre 30 et 39 ans.

La présence de phosphate ammoniacomagnésien (hexahydraté ; struvite) indique l'implication d'une infection à germes porteurs d'uréase (*proteus, klebsiella pneumoniae,* certains *staphylocoques,* etc.) dans la genèse du calcul. Généralement, la carbapatite est associée à la struvite dans ces lithiases. L'implication de bactéries dépourvues d'uréase (*Escherichia coli,* par exemple) dans la formation de calculs de la carbapatite (sans struvite) est encore controversée (Daudon M., 1995). Elle se forme en milieu sursaturé en ion ammonium et cristallise préférentiellement en urine alcaline. Celle-ci ne peut être reconnue d'emblée, en particulier s'il s'agit d'une infection du haut appareil masquée par une infection basse ou un obstacle sous-jacent (calcul par exemple) sur les voies excrétrices. La présence des cristaux de struvite dans les urines doit donc inciter à répéter l'examen cytobactéorologique des urines (ECBU) s'il existe une discordance entre les cristaux, le pH urinaire et le résultat de l'étude bactéorologique. Dans un nombre très réduit de cas, la struvite semble pouvoir exister aussi dans des urines effectivement stériles. Une origine métabolique doit alors être recherchée (Kaid-Omar *et al,* 1999 ; Daudon M., 1987).

Il existe également une autre forme de phosphate magnésien très rare ; le phosphate acide de magnésium trihydraté (**newberyte**) en interdépendance avec la struvite par conversion cristalline.

Le tableau 1 résume l'ensemble des composés chimiques, minéraux ou organiques, les plus fréquents dans la constitution des calculs ainsi que les formes cristallines sous lesquelles ils sont généralement identifiés.

Tableau 1: Constituants chimiques fréquents des calculs urinaires (Daudon et al, 1993 ; Daudon et Doré, 1999)

Constituant	Nom minéralogique ou organique	Formule chimique	Système cristallin
Oxalates de calcium			
• monohydraté	Whewellite	$CaC_2O_4.H_2O$	Monoclinique
• dihydraté	Weddelitte	$CaC_2O_4.2H_2O$	Quadratique
Phosphates de calcium			
• hydroxyapatite	Hydroxyapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	Hexagonal
• apatites carbonatés	Carbapatite	$Ca_{10}(PO4)_6CO_3$	Hexagonal
• phosphate acide de calcium dihydraté	Brushite	$CaHPO_4.2H_2O$	Monoclinique
• phosphate diacide de calcium dihydraté		$Ca(H_2PO4)_2.2H_2O$	Triclinique
• phosphate tricalcique		$Ca_3(PO_4)_2$	
• phosphates octocalcique		$Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$	Hexagonal
• Phosphate de calcium et de magnésium	Whitlokite	$Ca_9Mg(PO_4)_6HPO_4$	Hexagonal
Phosphates de magnésium			
• Phosphate ammoniaco-magnésien hexahydraté	Struvite	$MgNH_4PO_4.6H_2O$	Orthorombique
• Phosphate acide de magnésium trihydraté	Newberyte	$MgHPO_4.3H_2O$	Orthorombique
Acides uriques			
• Anhydre	Sulfamide	$C_5H_4O_3N_4$	Varié
• Dihydraté	Sulfamide	$C_5H_4O_3N_4.2H_2O$	Varié
Urates			
• urate acide de sodium	-	$NaC_5H_3O_3N_4.2H_2O$	Varié
• urate acide d'ammonium		$NH_4C_5H_3O_3N_4.2H_2O$	Varié
• urates amorphes complexes			
Dihydroxy-2,8-adénine		$C_5H_5O_2N_5$	Sans*
Xanthine	-		
Cystine	Bilirubine	$[-SCH_2CH(NH)_2COOH]_2$	Sans*
Protéines	Protéines		Sans*

** L'espèce chimique n'est pas cristalline au sens cristallographique du terme. Elle est donc amorphe.*

1.4.3. Lithiases médicamenteuses

Il s'agit d'une complication non négligeable de certaines thérapeutiques, beaucoup plus fréquente que la littérature ne semble l'indiquer car, les analyses chimiques classiques ne permettent pas de les identifier. Leur connaissance nécessite des analyses structurales fines. On estime que dans 2 à 3% des cas, un médicament est à l'origine ou participe à la croissance d'un calcul urinaire (Daudon M., 1998 ; Servais et al, 2004). Les calculs médicamenteux sont essentiellement organiques du fait de la constitution chimique des médicaments. Les principaux médicaments identifiés dans les calculs sont regroupés dans le tableau 2.

Tableau 2: Médicaments identifiés dans les calculs urinaires (Servais, 2004)

Principe actif	Forme identifiée
Antibactériens	
● ***Sulfamides***	
Sulfadiazine	N-acétylsulfadiazine, sulfadiasine
Sulfaguanidine	N-acétylsulfaguanidine, N,N-diacétylsulfaguanidine
Sulfaméthoxazole	N-acétylsulfaméthoxazole chlorhydrate
Sulfapérine	N-acétylsulfapérine
Sulfasalazine et sulfapyridine	N-acétylsulfapyridine
Sulfisoxazole	N-actétylsulfizoxazole
● ***Aminopénicillines***	
Amoxicilline	Amoxicilline trihydratée
Ampicilline	Ampicilline trihydratée
● ***Céphalosporines***	
Céftriaxone	Ceftriaxonate de calcium
● ***Quinolones***	
Ciprofloxacine	Ciprofloxacine, sel de magnésium
Fluméquine	Fluméquine
Norfloxacine	Norfloxacine, sel de magnésium
Acide oxolinique	Acide oxolinique
● ***Furanes***	
Nitrofurantoïne	Nitrofurantoïne
● ***Pyridines***	
Phénazopyridine	Hydroxyphénazopyridine sulfate et autres métabolites
Inhibiteurs des protéases	
Indinavir sulfate	Indinavir monohydraté
Nelfinavir	Nelfinavir
Analgésiques	
● ***Amino-4-quinoléines***	
Glafénine	Acides glaféniques et hydroxyglaféniques libres
Antrafénine	Acide antrafénique libre
Floctafénine	Acide floctafénine glycuronoconjugué
Molécules antihypertensives	
● ***Ptéridines***	
Triamtérène	Triamtérène, hydroxy-4'-triamtérène sulfate, hydroxy-4-triamtérène et métabolites glycuronoconjugués
Divers	
● ***Dérivés du silicium***	
Trisilicate de magnésium	Silice amorphe
Silice colloïdale	Silice amorphe
● ***Dérivés de l'aluminium***	
Hydroxyde d'aluminium	Urate d'aluminium, magnésium et potassium hydraté
Guaifénésine	Sel calcique de l'acide bêta-2-méthoxyphénoxy lactique
Allopurinol	Oxypurinol

Dans certains cas, le médicament ou ses métabolites entrent dans la composition du calcul, tandis que dans d'autres, c'est l'action du médicament sur l'homéostasie qui est responsable de la formation de la lithiase. Dans les deux cas, la substance lithogène peut provoquer le processus lithiasique ou se fixer sur un calcul déjà présent

1.5. Traitement urologique des lithiases urinaires

La prévalence de la lithiase urinaire dans la population générale varie selon les pays. Pour une prévalence d'épisodes de coliques néphrétiques observées, près de la moitié fait l'objet d'un geste urologique. Les avancées technologiques et les découvertes scientifiques de ces 20 dernières années ont mis à la disposition des urologues un nouvel arsenal thérapeutique, dominé par la lithotritie extracorporelle (LEC) et l'endo-urologie, qui a supplanté sans concession la chirurgie à ciel ouvert et diminué de façon spectaculaire la mortalité et la morbidité liées à la lithiase. Si les techniques et les indications du traitement urologique se sont modernisées et affinées, elles ne préviennent pas la récidive. Le coût engendré par cette prise en charge thérapeutique constitue un véritable problème de santé publique et est directement lié au caractère récidivant de la lithiase rénale (Traxer *et al*, 2008 ; Jungers P. *et al*, 1999a ; Jungers P. *et al*, 1999b).

Lorsque le calcul ne peut être éliminé spontanément sous l'effet d'un traitement médical symptomatique ou étiologique (anti-inflammatoires non stéroïdiens, alpha-bloquants, boissons abondantes, alcalinisation…), un geste urologique est envisagé. Différentes techniques, très efficaces et peu invasives, sont aujourd'hui disponibles.

1.5.1. Lithotritie extracorporelle (LEC)

La lithotritie (ou lithotripsie) extracorporelle par ondes de choc permet, depuis plus de 25 ans, de traiter plus de 80% des calculs quelle que soit leur localisation (Doré B., 2005). Le but est d'obtenir la fragmentation du calcul et son élimination par les voies naturelles. La réussite de la lithotritie dépend en partie de la qualité du repérage. Les contre-indications de la lithotritie sont la grossesse en cours, les malformations musculo-squelettiques sévères, l'obésité sévère (Indice de masse corporelle >35), un anévrisme de l'aorte ou de l'artère rénale, des troubles de la coagulation non contrôlés, une infection urinaire non traitée. La nature physicochimique des calculs influe sur l'efficacité de la technique (relative résistance des calculs de la cystine). Une densité du calcul supérieure à 1 000 unités Hounsfield est un paramètre péjoratif de fragmentation. Le taux de succès pour les calculs du rein est de 60 à

80% et de 70 à 80% pour l'uretère. L'élimination des fragments peut être facilitée par les alpha-bloquants. Les fragments résiduels asymptomatiques de moins de 4 mm doivent être suivis annuellement (Hüsnü Tokgöz *et al,* 2010 ; Conort, 2008 ; Doré B., 2005).

1.5.2. Urétéroscopie

L'indication de l'urétéroscopie rigide ou semi-rigide dépend de la localisation et de la taille du calcul. Pour les petits calculs proximaux, le traitement de première intention est la lithotritie extracorporelle; pour les calculs volumineux ou distaux, l'urétéroscopie est le traitement le plus efficace, mais elle est plus morbide. Elle doit être réalisée avec prudence, sous contrôle scopique, avec un guide de sécurité intrarénal. Les urines doivent être stériles. Le taux de succès de l'urétéroscopie est de 65 à 90%. Le risque de sténose est de 1%. La miniaturisation du matériel d'endoscopie permet de prendre en charge par urétérorénoscopie souple rétrograde les pathologies du haut appareil urinaire. Elle est un apport diagnostique majeur pour le diagnostic des hématuries inexpliquées et des cytologies urinaires positives avec bilan étiologique négatif. Son coût par rapport aux autres techniques reste à évaluer (Conort, 2008).

1.5.3. Néphrolithotomie percutanée (NLPC)

Son principe est de créer un tunnel dans la fosse lombaire pour extraire les calculs volumineux situés dans les cavités rénales : 5% des calculs urinaires sont actuellement traités par cette technique (environ 2500 actes par an en France). La néphrolithotomie percutanée, réalisée sous anesthésie générale au bloc opératoire, consiste à ponctionner le rein, le plus souvent par un calice inférieur, sous repérage radioscopique associé ou non à l'échographie. Le canal de travail est dilaté par des dilatateurs d'Alken sous contrôle radioscopique (Conort, 2008). Si nécessaire, un fibroscope est utilisé. La lithotritie endocorporelle fait appel aux ultrasons, à l'énergie pneumatique ou à la fibre laser. La ponction du rein en position de décubitus dorsal, qui réduit le risque de perforation colique et trouve son intérêt dans certaines indications.

1.5.4. Chirurgie à ciel ouvert, laparoscopie

Les indications de la chirurgie à ciel ouvert sont désormais rares, voire exceptionnelles (< 0,1%) : échecs ou complications des autres techniques, calculs durs, anomalies anatomiques associées, association calcul complexe et anomalies anatomiques. Cette

chirurgie est parfois difficile et nécessite du matériel spécifique. Pour le rein, la néphrotomie anatrophique est une intervention efficace qui préserve la fonction rénale. Pour l'uretère, la mini-urétérotomie est aussi peu invasive que la laparoscopie. Le taux de patients sans fragment résiduel est de plus de 90%. Les complications fréquentes sont les sténoses, les fistules et les infections, les pertes sanguines. La laparoscopie est utilisée comme voie d'abord pour traiter des calculs du rein. Les indications sont celles de la chirurgie ouverte, donc peu nombreuses. Toutes les interventions chirurgicales par voie ouverte se font en laparoscopie, qu'elle soit rétro- ou transpéritonéale avec majoritairement des pyélolithotomies. La majorité des auteurs souligne que ces interventions ne sont pas faciles et requièrent une certaine expertise. Les dernières publications semblent indiquer un regain d'intérêt pour cette voie d'abord grâce à l'assistance robotisée. Ses indications restent cependant marginales par rapport à la lithotritie extracorporelle, l'urétéroscopie ou la néphrolithotomie percutanée (Conort *et al,* 2004). Cependant, cette méthode reste justifiée dans certains cas de figures, par exemple pour les lithiases résultant d'une étroitesse des voies d'écoulement du bassinet. Ici, le seul retrait du calcul ne permettrait pas d'éliminer la cause de la lithiase, c'est-à-dire l'étroitesse des voies d'écoulement du bassinet. Une intervention permet dans ce cas d'y remédier.

1.5.5. Orientations d'un traitement

Elles dépendent des caractéristiques du calcul (nombre, taille, localisation, composition et dureté prévisibles), de la voie excrétrice (anomalie anatomique associée, dilatation, sténose), du patient (âge, poids, morphotype, état général, traitement anticoagulant), du plateau technique et des habitudes de l'opérateur, ainsi que des impératifs du patient.

1.5.5.1. Calcul rénal

Si le calcul est unique et de diamètre inférieur à 20 mm, la lithotritie extracorporelle est indiquée ; s'il est supérieur à 20 mm, la néphrolithotomie percutanée est préférée. Pour les calculs ramifiés complexes ou coralliformes, la néphrolithotomie percutanée est complétée par une lithotritie extracorporelle (Conort *et al,* 2004).

1.5.5.2. Calcul urétéral

En présence d'un calcul urétéral, les indications sont définies par son caractère obstructif ou non, son siège, sa taille :

– le calcul urétéral obstructif est une urgence thérapeutique ; les urines sont drainées par une sonde urétérale ou une sonde double J et, en cas d'échec, par une sonde de néphrostomie ; le calcul est traité en différé,

– en dehors de l'urgence, l'expulsion de 70% des calculs pelviens inférieurs à 5 mm est spontanée,

– calcul de 6 à 15 mm situé dans l'uretère lombaire : lithotritie extracorporelle ; en cas d'échec, urétéroscopie,

– calcul de 6 à 15 mm, situé dans l'uretère iliaque : lithotritie extracorporelle ou urétéroscopie,

– calcul urétéral (lombaire ou iliaque) de diamètre supérieur à 15 mm: l'urétéroscopie souple ou rigide est indiquée en première intention en fonction de la localisation du calcul,

– calcul de l'uretère pelvien : urétéroscopie ou lithotritie extracorporelle sont les deux techniques de référence (Conort *et al,* 2004).

1.5.5.3. Calcul vésical

Les calculs vésicaux, peu fréquents dans les pays occidentaux, peuvent être d'origine rénale ou vésicale; ils sont liés à la stase des urines en raison d'un obstacle cervico-prostatique (hypertrophie bénigne de la prostate, sténose du col vésical), d'un diverticule vésical ou d'un disfonctionnement neurologique. Chez la femme, il faut rechercher la présence d'un corps étranger. Chez l'enfant, l'infection et les facteurs nutritionnels prédominent. Si la taille du calcul est inférieure à 30-40 mm, une lithotritie endo-vésicale est indiquée. Si le calcul est plus volumineux, l'ablation se fait par voie sus-pubienne (cystolithotomie à ciel ouvert) (Conort *et al,* 2004).

1.6. Classification morpho-constitutionnelle des calculs urinaires

Les caractéristiques morpho-constitutionnelles d'un calcul urinaire sont déterminées par la nature chimique des éléments minéraux et organiques qui le constituent. Un constituant chimique de par sa proportion dans un calcul peut imposer un type. Compte tenu des relations entre composition et structure, il est possible de regrouper plus de 95% des calculs au sein d'une classification morpho-constitutionnelle en 6 types et 22 sous-types (tableau 5) définis à partir des caractéristiques morphologiques superficielles et internes du calcul, et illustrés à l'aide de tableaux et de planches publiés antérieurement (Bazin D. *et al,* 2007 ; Daudon M., 1998 ; Daudon M. et Doré B., 1999 ; Daudon M. *et al,* 1993). Un calcul peut comporter

plusieurs types morphologiques. La signification étiopathogénique de chacun des types présents dépend de son abondance dans le calcul, ainsi que de la nature et des proportions des phases cristallines identifiées par ailleurs. Cette classification morphologique possède des avantages multiples dont le plus important, en pratique quotidienne, est l'information étiopathogénique contenue dans l'association du type morphologique et de la composition. En effet, la définition du ou des types morphologiques d'un calcul permet, sur la base des corrélations établies avec les anomalies biologiques et les causes lithogènes, d'orienter le clinicien vers tel mécanisme ou telle pathologie (tableau 3). Il est à mentionner également que dans la majorité des cas observés, les calculs urinaires sont mixtes en associant deux ou trois, voire plus de constituants chimiques (Tableau 4).

L'annexe 1 des pages 182 et 183, présente les images correspondant aux différents types morphologiques des calculs urinaires selon la classification du professeur Michel Daudon.

Tableau 3: Classification morpho-constitutionnelle des calculs de l'arbre urinaire et ses relations avec les principales causes de nucléation et de croissance selon Michel Daudon (Daudon M. et al, 1999 ; Daudon M., Lettre 55, Dec.98)

Type	Sous-type	Composition chimique	Interprétation clinique	Morphologie	
				Aspect de la périphérie	Aspect de la section
I	Ia	**Whewellite**	Hyperoxalurie intermittente, maladie de Cacchi Ricci	Mamelonné, présence d'une ombilication, brun généralement foncé, plaque de Randall	concentrique à cristallisation radiale, brun foncé
	Ib	**Whewellite**	hyperoxalurie avec stase urologique, hyperoxalurie ancienne	rugueux, mamelonnée, mamelons souvent cassé pas d'ombilication brun foncé à brun noir	inorganisé parfois lacunaire brun foncé
	Ic	**Whewellite**	oxalose, hyperoxalurie primaire	lisse bourgeonné, couleur crème	cristaux prismatiques plus ou moins soudés, inorganisé brun clair à crème
	Id	**Whewellite**	hyperoxalurie avec stase	lisse, brun, jaune	concentrique en très fines couches sans cristallisation radiale
II	IIa	**Weddellite**	hypercalciurie	cristaux bipyramidaux brillants aux angles vifs brun clair, jaune	cristallisation radiale, lâche brun, jaune clair
	IIb	**Weddellite+Whewellite**	hypercalciurie intermittente et hyperoxalurie	cristaux épais et ternes aux angles émoussés, beige crème	inorganisé brun, jaune
	IIc	**Weddellite**	hypercalciurie avec stase	rugueux, beige à jaune	concentrique en périphérie mais inorganisé au centre brun, jaune plus ou moins foncé
III	IIIa	**Acide urique anhydre**	hyperuricurie intermittente urines à pH acide	lisse ou très peu bosselé de beige à orange	concentrique à cristallisation radiale, ocre à rouge
	IIIb	**Acide urique anhydre+ Acide urique dihydraté**	hyperuricurie urines à pH acide	rugueux, poreux crème à brun rouge	inorganisé, compacte orange à rouge
	IIIc	**Urates**	hyperuraturie et alcalinisation thérapeutique	rugueux, poreux, crème à brun	inorganisé, compacte gris à brun
	IIId	**Urate acide d'ammonium**	traitement alcalinisant, infection urinaire	rugueux, poreux gris à brun	inorganisé gris à brun
IV	IVa1	**Carbapatite**	infection urinaire, hyperparathyroïdie, acidose tubulaire secondaire	rugueux, bosselé blanc à beige	friable, concentrique blanc à beige
	IVa2	**Carbapatite+**	acidose tubulaire	bosselé, craquelé,	concentrique en

		Protéines	distale	vernissé, brun jaune	couches de couleurs alternées, blanc et brun
	IVb	**Carbapatite + Struvite + Urate acide d'ammonium**	infection urinaire avec alcalinisation	bosselé, rugueux avec des dépôts blanc à brun foncé	concentrique en couches de couleurs alternées, blanc et brun
	IVc	**Struvite + Carbapatite**	infection urinaire à germes uréasiques, donc alcalinisante	cristaux soudés aux angles peu vifs, blanc	lâche, concentricité et structure radiale floue blanchâtre
	IVd	**Brushite**	hypercalciurie, hyperparathyroïdie hyperphosphaturie,	rugueux ou pommelé légèrement translucide, crème à beige	concentrique radiale crème à grège
V	**Va**	**Cystine**	cystinurie	granuleux ou bosselé, cireux, translucide brun à jaune	radial, grossier jaune à brun clair
	Vb	**Cystine+ Carbapatite**	cystinurie traitée par alcalinisation	plus ou moins lisse, crème à jaune	finement concentrique, jaune au centre et blanchâtre en périphérie
VI	**VIa**	**Protéines + Phosphates**	pyélonéphrite	souvent mou, lisse, blanc à brun	inorganisé, brun à blanchâtre en condensation variable
	VIb	**Protéines + Divers constituants**	lithiases médicamenteuses et sécrétion de protéines tubullaires	rugueux, écaillé brun à noir	feuilleté, friable brun à noir, couleur variable
	VIc	**Protéines + Whewellite**	lithiase du dialysé	lisse, brun noir	inorganisé ou composé d'une couche protéique, contenant des éléments cristallins brun noir

Tableau 4: Principales associations morphologiques (Daudon M. et al, 1999)

Sous-types	Composition usuelle	Principales orientations étiologiques
Ia + IIa	Whewellite+weddellite	Hyperoxalurie intermittente + hypercalciurie intermittente
Ia + IIa + Iva	Whewellite+weddellite + carbapatite	Hyperoxalurie intermittente + hypercalciurie, maladie de Cacchi-Ricci + hypercalciurie
IIa + IVa	Weddellite+carbapatite	Hypercalciurie, hyperparathyroïdie primaire ou secondaire
Ia + IIIb	Whewellite+acides uriques	Hyperuricémie/ hyperuricurie + hyperoxalurie intermittente
Ia + IVa	Whewellite+carbapatite	Cacchi-Ricci, hyperoxalurie intermittente + infection urinaire
IVa + IVc	Carbapatite + struvite	Infection urinaire à germes uréasiques

Cependant l'adaptation de la classification de Daudon s'est avérée complexe et difficile à être adaptée dans la clinique de routine. Felix Grases et ses collaborateurs ont alors réalisé une classification plus simple qui contribue à l'établissement d'une corrélation entre la microstructure du calcul d'une part et les conditions pathologiques spécifiques à la formation de ce calcul d'autre part (Grases F. *et al*, 2002). Cette classification est présentée dans le tableau 5.

Tableau 5: Classification des calculs rénaux selon Felix Grases (Grases F. et al, 2002)

Classe	Sous-classe	Caractéristique
1	**Oxalate de calcium monohydraté (OCM) papillaire**	
	1a	**Noyau d'OCM et/ou Matière organique (MO)**
	1aI	Noyau de MO
	1aII	Noyau d'OCM et MO
	1b	**Noyau d' Hydroxyapatite (HAP) et/ou MO**
	1bI	Noyau d'HAP
	1bII	Noyau d'HAP et MO
2	**Oxalate de Calcium Monohydraté cavitaire**	
	2a	**Noyau d'OCM et MO**
	2b	**Noyau d'HAP et MO**
	2c	**Noyau d'Acide urique**
3	**Oxalate de Calcium Dihydraté (OCD)**	
	3a	**Pur**
	3aI	Sans transformation à OCM
	3aII	Avec transformation à OCM
	3b	**HAP comme composant minoritaire**
	3bI	Noyau d'HAP
	3bII	HAP entre cristaux d'OCM
	3bIII	HAP et MO
	3c	**OCD papillaire**
4	**OCD + HAP**	
	4I	Disposition de la structure en couche
	4II	Disposition désordonnée de la structure
5	**HAP ou Phosphate de calcium**	
	5a	**Pur**
	5b	**OCD comme composant minoritaire**
6		**Infectieux, struvite (PAM)**
7		**Brushite ou PhAcCa**
8		**Urique**
	8a	**Acide urique anhydre (AU0)**
	8aI	Structure compacte radiale
	8aII	Structure en couche, non radiale
	8aIII	Structure désordonnée
	8b	**AU0 et AU2**
	8bI	Structure en couche, non radiale
	8bII	Structure désordonnée
	8c	**Urates**
9	**Acide urique + Oxalte de calcium**	
	9I	Papillaire
	9II	Cavitaire
10		**Cystine**
11	**Peu fréquents**	
	11a	**M.O et nécrose papillaire**
	11aI	M.O.
	11aII	Nécrose papillaire
	11b	**Médicamenteux**
	11c	Artefacts : Pierres géologiques, graines et autres
	11d	Développement sur restes post lithotripsie extracorporelle
	11^{e}	Carbonate de calcium

1.7. Mécanismes de la lithogenèse

Le terme de lithogenèse regroupe l'ensemble des processus qui conduisent au développement d'un calcul dans les voies urinaires. Elle comporte plusieurs phases qui s'expriment successivement ou simultanément. Certaines étapes, qui concernent les premières étapes de la lithogenèse et que l'on peut désigner sous le terme de cristallogenèse, correspondent à la formation de cristaux à partir de substances initialement dissoutes dans les urines et ne constituent pas en soi à un processus pathologique (Daudon *et al*, 2008b).

La compréhension des mécanismes impliqués dans la formation de chaque type de calcul est une étape fondamentale pour une prévention efficace des récidives et, dans certains cas, pour permettre l'élimination des calculs en place par des traitements médicaux. La lithogenèse relève typiquement d'un mécanisme plurifactoriel dans la lithiase calcique, qui est de loin la plus fréquente, alors qu'il est essentiellement monofactoriel dans le cas de la lithiase urique primitive et dans les calculs faits de cystine, de 2,8-dihydroxyadénine ou de struvite (Daudon M. *et al*, 2000). Cependant, les étapes de la cristallogenèse et de la lithogenèse sont sensiblement identiques dans toutes les formes de lithiases.

1.7.1. Etapes de la formation des calculs (calculogenèse)

Le processus de la lithogenèse peut être décomposé en sept étapes qui se succèdent ou s'entremêlent au cours de la formation d'un calcul (Daudon M. et al, 2000). Ces étapes sont les suivantes :

- la sursaturation des urines,
- la germination cristalline,
- la croissance des cristaux,
- l'agrégation des cristaux,
- l'agglomération cristalline,
- la rétention des particules cristallisées,
- la croissance du calcul.

La figure 3 illustre le schéma simplifié résumant les étapes de la cristallogenèse dans le cas particulier des calculs oxalo-calciques.

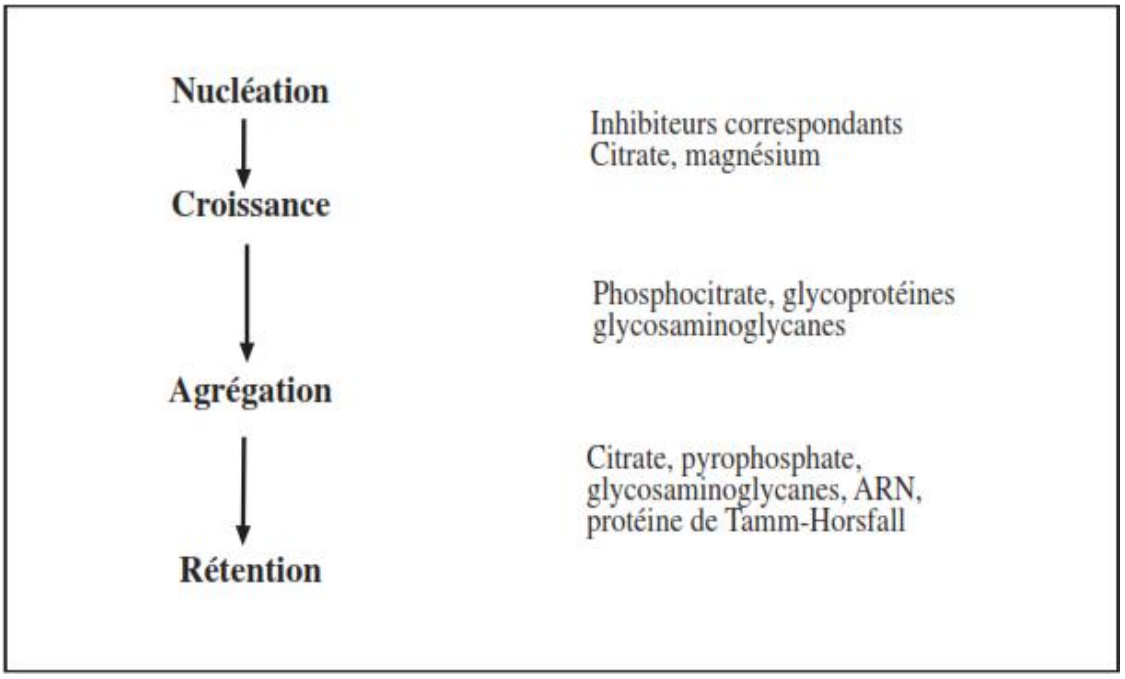


Figure 3 : Etapes de la calculogenèse oxalo-calcique (*Daudon et al, 2000***)**

- **Sursaturation urinaire**

La sursaturation traduit un excès de concentration d'une substance dissoute dans l'urine par rapport aux capacités solvantes de celle-ci. Dans des conditions physico-chimiques définies (température, pression, pH...), une substance peut être dissoute dans un solvant, en l'occurrence l'eau, jusqu'à une certaine concentration qui représente le produit de solubilité de cette substance dans le solvant. Dans les urines où pression et température peuvent être considérées comme constantes, le pH est le principal modificateur de la solubilité des substances qui y sont sensibles.

Le produit de solubilité est une caractéristique physique de la substance considérée. Lorsque la concentration de la substance égale son produit de solubilité, on dit que la solution est saturée vis-à-vis de cette substance. Lorsque la concentration de la substance excède son produit de solubilité, la solution est sursaturée vis-à-vis de cette substance et des cristaux de celle-ci peuvent en principe se former (Boistelle, 1985). Cependant, si l'excès de concentration par rapport au produit de solubilité est modéré, la cinétique de cristallisation est très lente, ce qui n'entraîne aucun risque de formation des cristaux dans les voies urinaires. Par ailleurs, l'urine est un milieu complexe de composition très fluctuante qui contient des molécules ou des ions (électrolytes, acides organiques, macromolécules...) susceptibles d'interagir avec les composantes de la substance cristallisable.

La germination et la croissance des cristaux ne peuvent se produire que dans des urines sursaturées en solutés correspondants. La sursaturation des urines est donc le mécanisme fondamental de l'apparition des germes cristallins. Elle dépend du rapport du produit d'activité ionique de la substance considérée à son produit de solubilité ***Kps***, qui représente la concentration soluble maximale de la substance dans le milieu. En milieu très dilué, l'activité ionique et la concentration molaire peuvent être pratiquement assimilées, mais il n'en est plus de même en solution concentrée à force ionique élevée. Dans ce cas, l'activité ionique est égale au produit de la concentration molaire par le coefficient d'activité ionique, défini par l'équation de Debye-Hückel, dans laquelle interviennent notamment la force ionique, la température et l'ionisation de la substance considérée. Lorsque le rapport du produit d'activité ionique au produit de solubilité est inférieur à 1, la solution est sous-saturée : il n'existe aucun risque de cristallisation. Si le rapport est élevé, des cristaux peuvent alors se former, ce qui a pour effet de ramener la concentration de la substance dans l'urine au voisinage du Kps. La sursaturation dépend donc à la fois de concentration molaire des substances dissoutes et de leur degré d'ionisation, qui dépend lui-même du pH des urines. La concentration molaire dépend à la fois du débit urinaire quotidien des solutés et du volume de la diurèse. La sursaturation est également dépendante des autres composantes de l'urine telles que la force ionique et la concentration en substances capables d'interagir avec les solutés lithogènes. Une force ionique élevée exerce un effet solubilisant. Le niveau de la sursaturation est d'une grande importance dans la cinétique de cristallisation.

En effet, la vitesse de formation des germes cristallins ou nucléation, est d'autant plus rapide que la sursaturation est plus élevée. Compte tenu du temps de transit de l'urine au travers des néphrons, qui est compris entre 1 et 3 minutes pour les diurèses usuelles, la valeur de la sursaturation qui permet de former des cristaux dans ce laps de temps doit atteindre 8 à 9 fois la valeur de Kps. Ce seuil cristallogène peut être défini comme le produit de formation (P_F) de la substance considérée. Les valeurs de Kps et de P_F définissent ainsi trois zones de saturation où les risques cristallogènes ne sont pas les mêmes et qui correspondent à des situations pathologiques différentes (figure 4). Lorsque la saturation de l'urine se situe au-dessous du Kps pour un soluté donné, ce dernier ne peut cristalliser et des cristaux formés éventuellement en amont, dans une zone du tube rénal où la sursaturation, du fait du gradient corticopapillaire, étant plus importante, vont pouvoir se redissoudre. Si la sursaturation se situe au-dessus du P_F, l'urine est en zone instable car la cinétique de cristallisation, du fait du degré élevé de sursaturation, va permettre la formation et la croissance de cristaux dans le laps

de temps nécessaire au transit de l'urine à travers le rein. Entre les valeurs de Kps et de P_F, la sursaturation est plus modérée. L'urine est dite métastable, c'est-à-dire incapable d'induire une cristallisation spontanée pour l'espèce considérée, mais susceptible de favoriser la cristallisation de celle-ci par nucléation hétérogène à partir d'autres particules (cristaux préexistants de phosphate de calcium par exemple) et d'assurer la croissance des cristaux formés.

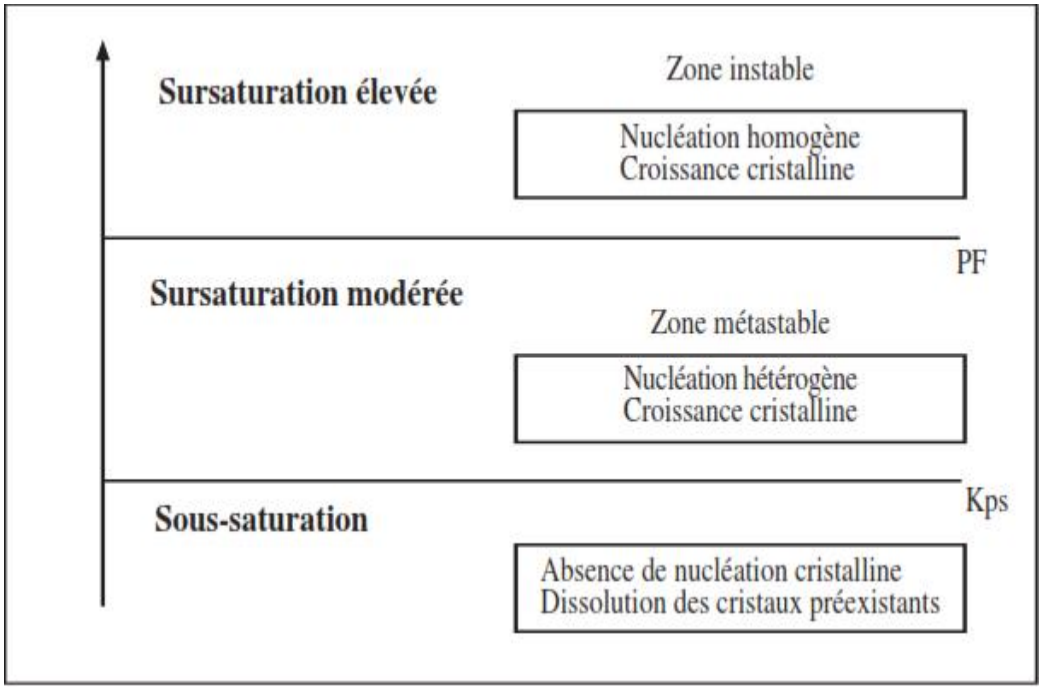


Figure 4: Représentation schématique des différents niveaux de saturation urinaire (*Doddametikurke et al, 2007***)**

- **Germination ou nucléation cristalline**

Lorsque le niveau de sursaturation est suffisant, les molécules dissoutes se rassemblent pour constituer des germes cristallins, premier stade des particules solides conduisant à la formation de calculs. Cette étape de germination ou nucléation cristalline peut traduire différentes situations. Schématiquement, on distingue essentiellement deux sortes de nucléation: la nucléation homogène et la nucléation hétérogène. La nucléation homogène correspond à la cristallisation directe d'une espèce dont le niveau de sursaturation est élevé. C'est par exemple le cas de la cystine dans la cystinurie-lysinurie congénitale, de la dihydroxyadénine dans les déficits génétiques homozygotes en adénine phosphoribosyltransférase (APRT), de l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) dans l'hyperoxalurie primaire de type 1 ou encore du phosphate ammoniaco-magnésien

hexahydraté (struvite) dans certaines infections urinaires par des micro-organismes dotés d'une uréase très active. La nucléation hétérogène s'observe pour des niveaux de sursaturation moindres et traduit le fait que les cristaux se forment au contact de particules telles que des débris épithéliaux ou cellulaires ou d'autres cristaux préexistants, jouant le rôle d'inducteurs (Atmani *et al,* 1997). C'est le processus de loin le plus fréquent dans la lithiase urinaire calcique ou urique commune où le calcul est formé par épitaxie et dont le noyau est initié par les cristaux d'acide urique (Srinivasan *et al,* 2006).

- **Nucléation homogène et nucléation hétérogène**

Lorsque le produit de formation d'une espèce est atteint, des germes cristallins de cette espèce se forment à partir des ions de la substance en solution dans l'urine. Dans ce cas, la cristallurie se compose uniquement de l'espèce considérée. On parle alors de germination cristalline par un processus de nucléation homogène. En fait, la réalité biologique est souvent différente parce que les urines humaines sont fréquemment sursaturées simultanément vis-à-vis de plusieurs substances cristallisables, par exemple oxalate de calcium et phosphate de calcium, oxalate de calcium et acide urique ou encore oxalate de calcium et urate de sodium. C'est particulièrement le cas chez les patients lithiasiques. Dans ce cas, si le produit de formation de l'une des substances est atteint, entraînant sa cristallisation dans l'urine, la présence de ces cristaux peut induire la cristallisation d'une seconde espèce pour laquelle le produit de formation n'est pas encore atteint en raison d'une moindre sursaturation. On parle alors d'épitaxie ou de cristallisation par nucléation hétérogène (Srinivasan *et al,* 2006). Ce phénomène, qui entraîne la présence simultanée d'au moins deux espèces cristallines dans l'urine, est très courant puisque près de 40 % des urines contenant des cristaux ont une cristallurie spontanément mixte (Daudon M. *et al,* 1995b). Ce mécanisme est responsable de la majorité des pathologies lithiasiques observées aujourd'hui, pour lesquelles des facteurs métaboliques, mais aussi des facteurs diététiques et des prédispositions génétiques sont souvent impliqués. Bien entendu, l'une des conséquences de la nucléation hétérogène est la formation de calculs de composition mixte. Il faut se rappeler qu'environ 90 % des calculs sont mixtes et que les associations entre oxalate de calcium et phosphate de calcium représentent plus de deux tiers des cas.

- **Croissance des cristaux**

Les germes cristallins formés mesurent de quelques centaines d'angströms à quelques microns et s'écoulent donc en principe librement avec l'urine au cours du transit tubulaire dont la durée normale ne dépasse pas quelques minutes. Ce délai est trop court pour permettre à des cristaux nucléés dans le tubule d'atteindre, par simple croissance cristalline, une taille suffisante pour provoquer leur rétention dans les tubes collecteurs. En revanche, les urines peuvent rester de nombreuses heures dans la vessie. Pendant cette période de temps, la croissance des cristaux peut y générer la formation de particules parfois assez grosses comme les cristaux d'acide urique dihydraté qui pourront s'agréger et engendrer un processus lithiasique. Un exemple assez représentatif de ce phénomène est la lithiase urique de l'homme âgé qui présente une hypertrophie de la prostate. À cause de celle-ci et de la stase vésicale des urines qu'elle entraîne (vidange vésicale incomplète), des cristaux d'acide urique, formés dans une urine souvent acide en raison d'une résistance à l'insuline, vont croître et s'agréger localement, conduisant au développement de calculs intravésicaux.

- **Agrégation des cristaux**

Contrairement à la croissance, l'agrégation cristalline, qui met en jeu des phénomènes d'attraction électrostatique en fonction de la charge superficielle des cristaux, est un processus rapide. Elle peut, de ce fait, engendrer des particules volumineuses (plusieurs dizaines ou, plus rarement, plusieurs centaines de microns) dans un délai très court, inférieur au temps de transit de l'urine à travers le rein. À cause de leur taille, mais aussi de leur forme très irrégulière et de la présence de nombreuses aspérités (cristaux anguleux), les agrégats ainsi formés sont susceptibles d'être retenus dans les segments terminaux des néphrons, sur l'épithélium papillaire ou dans les cavités excrétrices du rein. L'agrégation cristalline est considérée aujourd'hui comme une étape importante de la lithogenèse et plusieurs travaux ont montré que les urines de sujets lithiasiques avaient une moindre aptitude à réduire l'agrégation des cristaux que les urines de sujets normaux (Kok D.J. *et al*, 1990). Parfois, l'accumulation de cristaux plus petits en amont d'un agrégat retenu dans le tube collecteur en raison de sa grande taille peut entraîner une obstruction du tube et la formation d'un véritable « bouchon cristallin » qui peut, lui aussi, être le point de départ d'un processus lithiasique.

Un exemple de ce type de lithogenèse est illustré par la figure 5 où l'on voit un calcul de whewellite formé à partir d'un moule tubulaire composé d'un mélange de gros cristaux agrégés d'urate de sodium monohydraté et de très petits mais nombreux cristaux de

carbapatite piégés par l'agrégat d'urate de sodium. L'urate de sodium, qui cristallise souvent en longues aiguilles facilement agrégées, a été retenu dans le tube collecteur et a déclenché le processus lithiasique en facilitant l'accumulation secondaire des petits cristaux sphériques de carbapatite qui, agglomérés autour de l'agrégat, ont constitué l'essentiel du moule tubulaire (Daudon M. *et al,* 2008b).

Figure 5: Calcul papillaire de whewellite formé à partir d'un moule tubulaire de carbapatite et d'urate de sodium (*Daudon M. et al, 2008b***)**

- **Agglomération cristalline**

L'agglomération des cristaux implique des macromolécules urinaires qui, par leurs nombreuses charges négatives, peuvent se fixer à la surface des cristaux et favoriser secondairement la fixation de nouveaux cristaux sur les premiers en les organisant les uns par rapport aux autres, contribuant ainsi à l'architecture du calcul. Il s'agit d'un aspect fondamental des processus lithiasiques s'exprimant aussi bien au niveau des étapes initiales de la lithogenèse, qui aboutissent à la rétention de particules dans les voies urinaires, que dans les phases ultérieures de croissance du calcul initié. Les macromolécules impliquées dans ces processus sont essentiellement des protéines. Certaines sont souvent impliquées dans des

processus d'inhibition cristalline et semblent donc avoir un rôle ambigu qui s'explique par la variabilité du milieu urinaire. Les interactions entre macromolécules et cristaux sont complexes et dépendent de plusieurs facteurs : pH, force ionique, concentration en inhibiteurs de faible masse molaire comme le citrate, concentration en promoteurs comme le calcium ou en électrolytes, en particulier le sodium, tous facteurs susceptibles de modifier la conformation de ces macromolécules, leur affinité pour les cristaux et leur efficacité à exercer leur action inhibitrice (Basavaraj *et al*, 2007).

- **Rétention ou calculogenèse**

La rétention des particules cristallines, soit en raison de leur taille, soit, plus souvent, par fixation à l'épithélium, représente la première étape du processus lithiasique proprement dit. Les interactions entre les cristaux et la surface des cellules épithéliales sont considérées aujourd'hui comme la principale cause de nidation et de formation d'un calcul. L'un des sites privilégiés de cette fixation est la papille rénale qui comporte fréquemment, tout particulièrement chez le sujet lithiasique, des microdépôts calciques intraparenchymateux dont la mise au contact avec l'urine, par effraction de l'épithélium, forme une plaque, dite plaque de Randall (du nom de l'urologue qui en a fait la description pour la première fois, voir figure 6) qui représente le principal support à la nucléation hétérogène de l'oxalate de calcium.

Quatre situations différentes peuvent être envisagées :

• l'adhésion d'un cristal ou d'un agrégat cristallin à la surface de l'épithélium tubulaire, avant son évacuation avec les urines hors du néphron,

• la rétention d'un agrégat cristallin du fait de sa taille ou/et de sa forme, à l'intérieur du néphron, notamment dans le tube collecteur,

• l'accrochage direct à l'épithélium papillaire ou par l'intermédiaire d'un support minéral préexistant, de cristaux ou d'agrégats formés dans le néphron puis éliminés au niveau des cavités excrétrices par le tube collecteur ou générés dans l'environnement de la papille,

• le blocage ou la sédimentation dans un repli muqueux, une cavité déclive (diverticule) ou un calice rénal, des cristaux excrétés par le néphron.

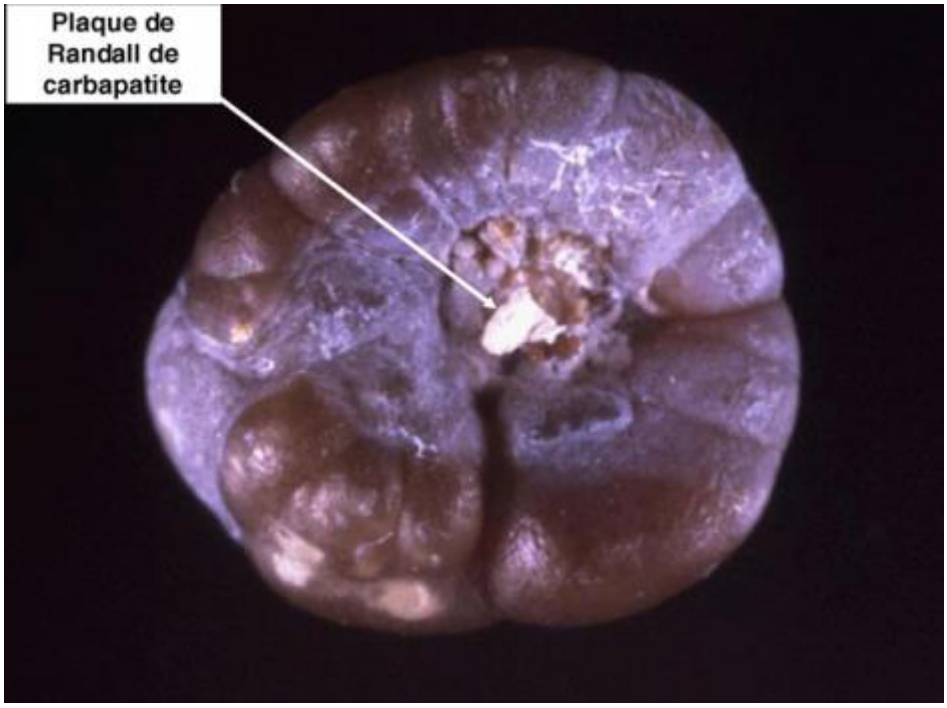


Figure 6: Calcul de whewellite formé sur la papille rénale à partir d'une plaque de Randall (*Daudon et al, 2008b***)**

- **Croissance du calcul**

La vitesse de croissance du calcul initié par la rétention cristalline est ensuite très variable, dépendant du niveau de sursaturation des urines et donc de la nature des anomalies métaboliques présentes. Lorsque la lithogenèse résulte de fautes diététiques, son expression est intermittente et la croissance du calcul se fait par poussées au gré des sursaturations urinaires. Lorsque la cause est une maladie génétique, le calcul se développe de manière plus régulière et de nouvelles particules retenues dans le rein sont le point de départ de nouveaux calculs qui grossissent généralement au même rythme que les premiers, ce qui explique la différence de taille observée entre les calculs les plus anciens, généralement les plus volumineux, et les calculs plus récents. Parfois, pour des raisons anatomiques ou de flux urinaire, certains calculs ont la possibilité de capter de nouvelles molécules plus facilement que d'autres et vont alors croître plus rapidement. Lorsque la sursaturation est liée à une anomalie métabolique de forte amplitude, le calcul qui en résulte est généralement pur (par exemple, cystine dans la cystinurie-lysinurie, whewellite dans l'hyperoxalurie primaire). Dans le cas contraire, il peut fixer des composants divers au gré des sursaturations urinaires, ce qui explique le fait que la plupart des calculs urinaires renferment plusieurs espèces cristallines.

La croissance n'est pas le seul mode d'évolution spontanée que peut subir un calcul retenu dans les voies urinaires. En effet, d'autres phénomènes peuvent s'exprimer qui vont conduire à des modifications de phases cristallines. Ils résultent de l'instabilité de certaines formes hydratées qui ont tendance à évoluer progressivement dans le temps vers des formes thermodynamiquement plus stables et moins hydratées. Ainsi, l'acide urique dihydraté, qui se forme facilement lorsque l'urine est très acide, se convertit peu à peu au sein du calcul en acide urique anhydre avec quelques remaniements morphologiques qui attestent ce processus de conversion. De même, la weddellite, sous certaines conditions, peut se transformer en whewellite comme l'illustre la Figure 7. D'autres espèces cristallines sont concernées comme la struvite, qui peut perdre son ammonium et une partie de ses molécules d'eau pour se transformer en newbéryite. Ce processus permet de comprendre pourquoi beaucoup de calculs d'infection anciens, conservés dans des musées et analysés aujourd'hui par des techniques physiques modernes comme la spectrométrie infrarouge ou la diffraction des rayons X, révèlent de fortes proportions de newbéryite alors qu'ils étaient initialement composés de struvite (Daudon M., 2008b).

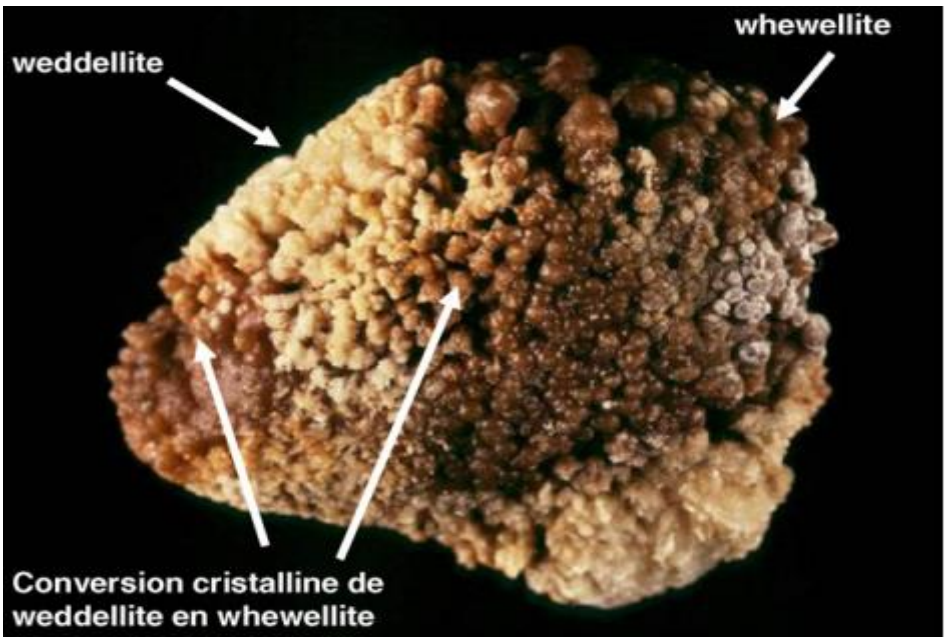


Figure 7: Calcul d'oxalate de calcium montrant la transformation des cristaux anguleux de weddellite initialement formés en structure mamelonnée de whewellite par conversion cristalline (*Daudon M. et al, 2008b***)**

1.7.1.1. Cas particuliers : La lithogenèse infectieuse

Les calculs d'infection sont un cas particulier de la lithogenèse par la nature de leurs composants dont la struvite est l'élément le plus représentatif. Sa formation requiert un produit molaire phospho-ammoniaco-magnésien et un pH urinaire élevés, ces deux conditions étant exceptionnellement observées dans des conditions physiologiques ou pathologiques d'origine métabolique. En pratique, ces calculs résultent d'une infection chronique des voies urinaires par des micro-organismes possesseurs d'une uréase active. Celle-ci produit, par hydrolyse de l'urée, les quantités d'ions ammonium nécessaires pour élever le pH et générer une sursaturation suffisante pour entraîner la cristallisation de la struvite. L'élévation du pH est aussi responsable d'une sursaturation en phosphates de calcium. L'hydrolyse de l'urée, qui libère du gaz carbonique en même temps que de l'ammoniac, augmente la pression partielle de gaz carbonique (pCO_2) urinaire et favorise l'incorporation d'ions carbonates au sein des phosphates calciques qui précipitent en raison du pH élevé. Ces différentes modifications urinaires sont responsables d'une lithogenèse active du fait que plusieurs espèces cristallines se trouvent simultanément en forte sursaturation. En cas d'uricurie élevée, l'urate d'ammonium peut cristalliser également. La lithogenèse infectieuse par des germes uréasiques est schématisée par la Figure 8. D'autres contextes infectieux peuvent favoriser la formation de calculs. En particulier certaines infections par des germes non uréasiques, notamment certains colibacilles, peuvent engendrer des calculs sans struvite, mais riches en phosphates calciques particuliers comme la whitlockite (phosphate mixte de calcium et magnésium) et/ou le phosphate amorphe de calcium carbonaté (Estepa *et al,* 1999 ; Barbey *et al,* 2004). En urine acide, les candidoses urinaires (infection par des champignons microscopiques), par la baisse de pH qu'elles entraînent, favorisent la cristallisation de l'acide urique (Barbey et al, 2004 ; Rieu, 2005). Ainsi, pour juger de l'implication d'une infection des voies urinaires dans le développement d'une lithiase, il ne faut pas se limiter à la recherche de la struvite.

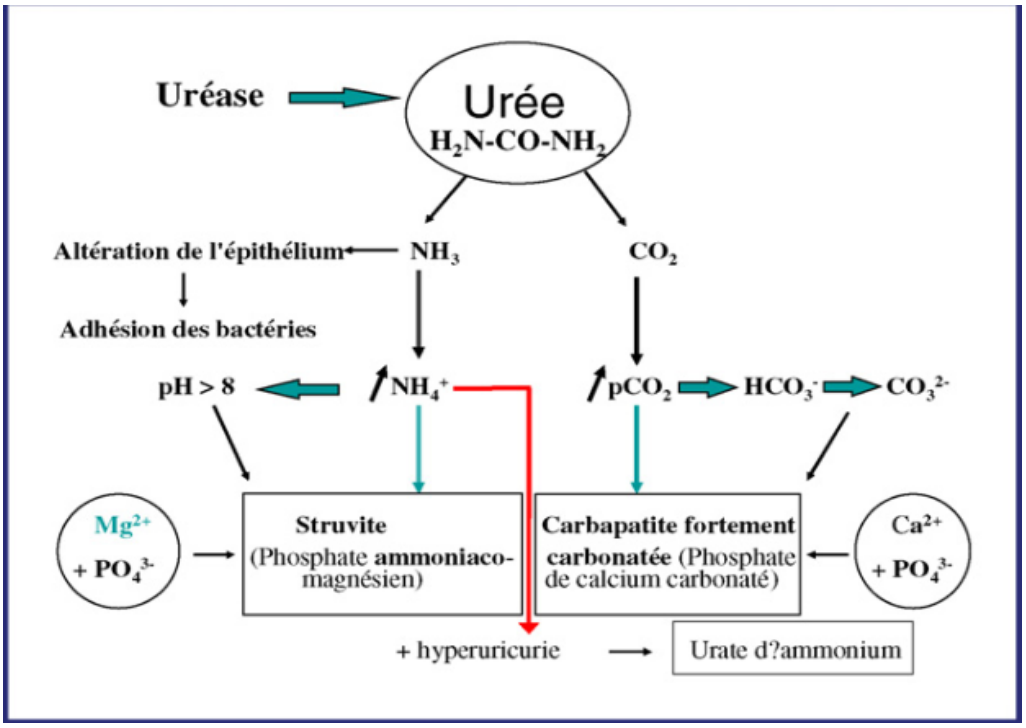


Figure 8: Représentation schématique de la décomposition de l'urée par des micro-organismes uréasiques induisant la formation de la struvite et/ou de phosphates de calcium fortement carbonatés. (*Carpentier X. et al, 2009***)**

1.7.2. Promoteurs et inhibiteurs de la cristallisation

Les ions qui participent à la formation des espèces insolubles sont appelés **promoteurs** de la cristallisation. Au nombre d'une dizaine, ils s'associent très souvent par deux ou par trois pour former une substance cristallisable qui, elle-même, peut se présenter sous plusieurs espèces cristallines (Figure 9). Ces dernières se forment dans des environnements biologiques différents dont elles témoignent, d'où l'intérêt de les prendre en considération pour identifier les facteurs étiologiques d'une maladie lithiasique. Dans le cas de l'oxalate de calcium, la whewellite (oxalate de calcium monohydraté) est avant tout oxalate-dépendante, donc le marqueur d'états hyperoxaluriques, alors que la weddellite (oxalate de calcium dihydraté) est plutôt calcium-dépendante et observée préférentiellement dans des contextes hypercalciuriques. En ce qui concerne les phosphates calciques, des distinctions méritent d'être faites selon la nature de l'espèce cristalline identifiée. Ainsi, la brushite est, comme la weddellite, une forme cristalline calcium-dépendante, contrairement à la whitlockite que l'on rencontre plutôt dans des contextes infectieux (Estepa M. *et al,*

1999).

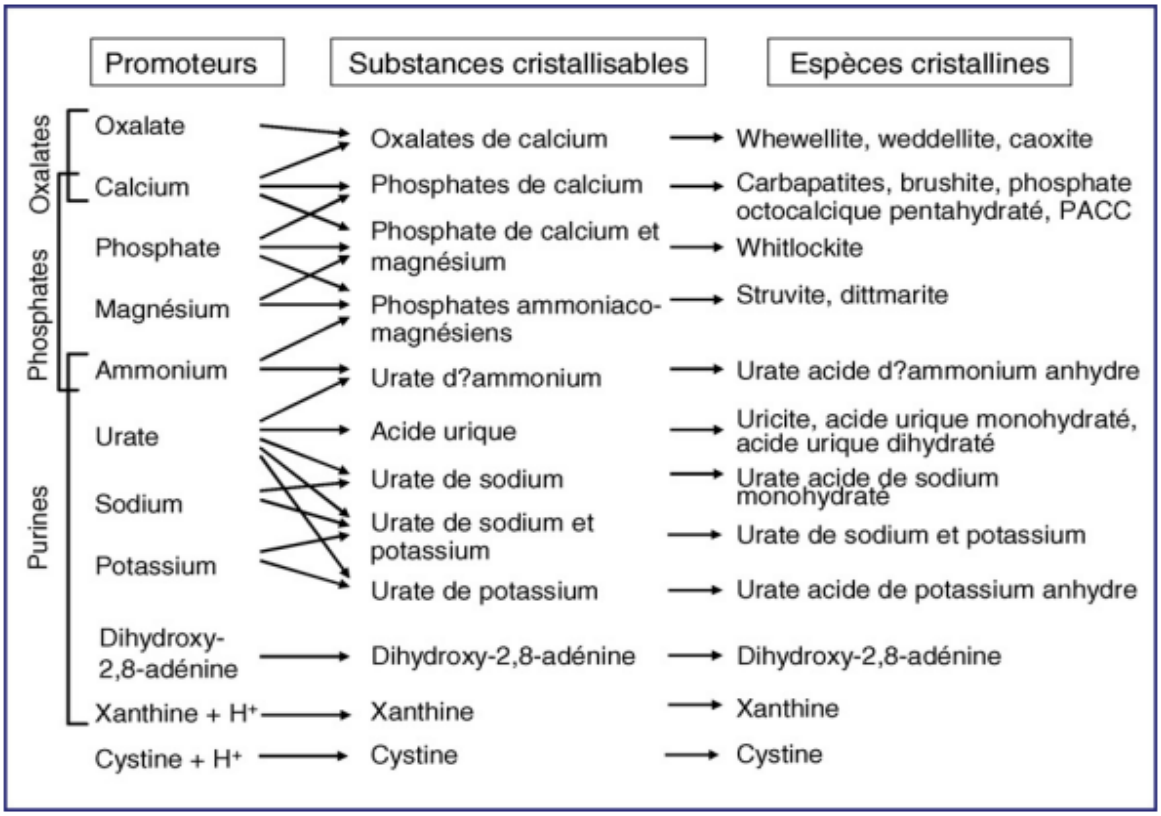


Figure 9: Promoteurs, substances cristallisables et espèces cristallines (*Daudon M. et al, 2008a)*

Pour s'opposer aux effets des promoteurs, différentes substances de l'urine, également ionisées, sont capables de former des espèces chimiques solubles qui vont réduire le risque de cristallisation ou vont se fixer à la surface des germes cristallins pour les empêcher de grossir ou de s'agréger. Certaines molécules possèdent parfois plusieurs de ces propriétés. Les substances à même de réduire le risque de cristallisation, notamment en élevant le produit de formation, sont essentiellement des complexants. À cette catégorie appartient notamment le citrate qui forme des complexes solubles avec le calcium et soustrait ainsi celui-ci aux ions oxalates ou phosphates. Le citrate est aussi capable de perturber la croissance et l'agrégation cristallines, mais ses propriétés sont essentiellement l'apanage des macromolécules, dont plusieurs exercent un effet antilithiasique en réduisant la croissance des cristaux et/ou leur agrégation et/ou leur adhésion à l'épithélium. Toutes ces substances, complexantes ou s'opposant à l'évolution des germes cristallins formés, sont désignées sous le terme d'**inhibiteurs** de la cristallisation. On peut les subdiviser en deux groupes : d'une part, les ions de faible poids moléculaire et, d'autre part, les macromolécules, qu'elles soient de nature protéique ou polysaccharidique (Daudon M. *et al,* 2008b ; Daudon *et al,* 2000 ;

Doddametikurke *et al*, 2007). Les principaux inhibiteurs urinaires connus à ce jour sont indiqués dans le Tableau 6.

Tableau 6: Inhibiteurs de la cristallisation (Daudon et al, 2008b)

Inhibiteurs de faible poids moléculaire	Cible	Inhibiteurs macromoléculaires	Cible
Cations		***Protéine***	
Zn^{2+}	CaOx	Protéine de Tamm-Horsfall	CaOx
Fe^{3+}	CaOx	Néphrocalcine	CaOx
Mg^{2+}	CaOx	Uropontine	CaOx, CaPh
Anions		***Bikunine***	***CaOx***
Citrate	CaOx, CaPh	Fragment 1 de la prothrombine	CaOx
Isocitrate	CaOx, CaPh	Fibronectine	CaOx
Phosphocitrate	CaOx, CaPh	Calprotectine	CaOx
Pyrophosphate	CaOx, CaPh	Lithostathine	$CaCO_3$
Aspartate	CaOx	Glycosaminoglycanes	
Glutamate	CaOx	Sulfate de chondroïtine	CaOx, acide urique, urates
Hippurate	CaOx	Sulfate d'héparane	CaOx
Cofacteurs d'inhibition		***Sulfate de kératane***	***CaOx***
Variabilité du pH	Acide urique, urates, CaPh, struvite	Sulfate de dermatane	CaOx
Force ionique	Tous cristaux	Acide hyaluronique	CaOx, CaPh

CaOx : oxalate de calcium; CaPh : phosphate de calcium; $CaCO_3$: carbonate de calcium

1.7.3. Influence du pH urinaire sur la lithogenèse

Le pH urinaire, dans les limites usuellement observées, a une influence réputée négligeable sur la précipitation spontanée des cristaux d'oxalate de calcium. En réalité, son influence considérable sur l'ionisation de molécules promotrices ou inhibitrices des urines se répercute nécessairement sur le risque cristallogène d'espèces dont la cristallisation est théoriquement peu influencée par ses variations. Le pH des urines exerce donc, d'une certaine manière, un effet inhibiteur indirect, mais particulièrement important, vis-à-vis de la nucléation hétérogène de l'oxalate de calcium et de la cristallisation spontanée de certaines espèces comme l'acide urique, les urates et les phosphates. Cet effet s'explique par les caractéristiques de solubilité de ces espèces en fonction des zones de pH urinaire, comme le montre le tableau 7.

Tableau 7: Domaine usuel de pH favorisant la précipitation des principales espèces cristallines observées dans les urines. (Daudon M. et al, 2008b)

Principales espèces cristallines	Domaine usuel de pH
Acide urique dihydraté	4,7-5,4
Urates amorphes complexes	5,2-5,8
Weddellite	5,3-6,6
Whewellite	5,3-6,8
Brushite	5,7-7,0
Carbapatite et PACC	5,9-7,5
Struvite	6,8-8,2
Urate acide d'ammonium	7,4-8,5

1.7.4. Rôle lithogène de l'acidité

Un pH acide (< 5,3) favorise la précipitation de l'acide urique avec production d'une lithiase urique pure, tandis qu'un pH moins acide, compris entre 5,3 et 5,8, est souvent associé à des cristalluries mixtes faites tantôt d'acide urique, tantôt d'oxalate de calcium, tantôt du mélange des deux espèces cristallines. La solubilité de l'acide urique ne dépasse pas 1mmol/L à pH < 5,5 tandis qu'elle est supérieure à 3 mmol/L à partir de pH 6, fait mis à profit dans le traitement de la lithiase urique. L'alcalinisation des urines est ainsi à la base du traitement de la lithiase urique, alors que la solubilité de la 2,8-dihydroxyadénine, autre purine lithogène, n'est aucunement influencée par l'augmentation du pH urinaire. La cystine est peu soluble dans l'urine à pH <7. Chez le sujet normal, la concentration de cystine est suffisamment faible pour être en permanence au-dessous du produit de solubilité. En revanche, chez les malades atteints de cystinurie-lysinurie, l'excrétion de cystine est souvent multipliée par 10, voire davantage, ce qui provoque une sursaturation importante de la cystine au pH usuel de l'urine, sa solubilité ne dépassant pas 1 mmol/L au-dessous de pH 7. La solubilité de la cystine n'augmentant sensiblement qu'à partir de pH 7,5 (> 2 mmol/L), la base du traitement de la cystinurie, outre une cure de diurèse importante pour réduire sa concentration urinaire, consiste à alcaliniser les urines afin d'augmenter la solubilité de cet aminoacide. Il est à noter qu'aucun inhibiteur naturel n'est connu pour s'opposer à la formation de cristaux d'acide urique, de cystine ou de 2,8-dihydroxyadénine (Daudon M. *et al*, 2000).

1.7.5. Rôle lithogène de l'alcalinité

La solubilité des phosphates calciques et magnésiens et, à un moindre degré, des urates, diminue considérablement avec l'élévation du pH des urines, si bien qu'un pH supérieur à 6 s'accompagne fréquemment de la précipitation de phosphate de calcium sous forme de carbapatite ou de phosphate amorphe de calcium carbonaté, aussi bien chez les sujets normaux que lithiasiques. La faible taille des cristaux, le plus souvent inférieure à 3 microns, n'entraîne généralement pas de risque lithogène s'il n'existe pas d'autres facteurs, métaboliques ou anatomiques capables, respectivement, de moduler la cristallisation et de créer des zones de stase propices à l'agglomération cristalline. Lorsque le pH est élevé, en pratique supérieur à 7,5, il existe un risque accru de précipitation du phosphate ammoniaco-magnésien (struvite) et de l'urate d'ammonium, tout particulièrement si l'alcalinité s'accompagne d'une production accrue d'ions ammonium. La brushite, phosphate de calcium dihydraté, est une espèce particulièrement agressive par sa capacité à former, en urine hypercalciurique de pH supérieur à 6, des cristaux de grande dimension (souvent supérieure à 50 microns) s'agrégeant facilement et à générer un processus de nucléation hétérogène avec les cristaux d'oxalate de calcium dihydraté.

- **Infection urinaire et lithogenèse**

De nombreux micro-organismes capables de coloniser l'arbre urinaire sont porteurs d'un matériel enzymatique leur permettant, à partir des composants de l'urine, d'extraire les éléments nécessaires à leur développement. Il est fréquent que l'action de ces enzymes entraîne une modification du pH des urines, provoquant ainsi une sursaturation importante en une ou plusieurs substances qui peuvent alors cristalliser et générer des calculs. Les micro-organismes possesseurs d'une uréase, tels que les Proteus, mais aussi des Staphylococcus, des Pseudomonas ou des Klebsiella favorisent la précipitation de phosphate ammoniaco-magnésien et de carbapatite en augmentant la teneur des urines en ions ammonium (qui augmentent le pH urinaire) et en ions carbonate (Griffith *et al*, 1987).

1.7.6. Indicateurs du risque lithogène oxalocalcique

La lithiase oxalo-calcique représente actuellement la forme prédominante des calculs du haut appareil urinaire. Les explorations métaboliques de base portent essentiellement sur des prélèvements d'urines de 24 heures et révèlent fréquemment des perturbations de la calciurie, de la citraturie, de la magnésiurie, de l'oxalurie ou de l'uricurie. Toutefois, ces anomalies

manquent souvent de spécificité et ne permettent qu'une évaluation imprécise du potentiel évolutif de la maladie lithiasique. Leur correction constitue le fondement de la prise en charge prophylactique de la pathologie lithiasique mais ne supprime pas systématiquement les récidives (Robert, 1996).

Une hypercalciurie idiopathique, est décelée dans 40 à 70% des cas mais dans les pays occidentaux, cette anomalie concerne environ 20% de la population indemne de toute lithiase urinaire et sa signification est controversée. Elle représente pour la plupart des auteurs un facteur lithogène primordial susceptible d'être atténué ou au contraire potentialisé par d'autres éléments de l'excréta urinaire. Robertson M.W. ne lui accorde cependant qu'un intérêt marginal par rapport à l'hyperoxalurie et Baggio B. propose un indice de risque lithogène négligeant complètement la calciurie. Le dépistage d'une hypercalciurie impose néanmoins des investigations complémentaires afin d'en préciser l'origine digestive, rénale ou osseuse. Une hypocitraturie, une hyperuricurie, une hyperoxalurie voire une hypomagnésiurie sont régulièrement constatées. Des médicaments hypo-uricémiants et des apports citratés sont souvent associés aux recommandations diététiques mais l'intérêt d'une supplémentation en magnésium est plus discuté (Maxime Robert, 1996).

1.7.6.1. Produits et rapports molaires

Le produit molaire oxalo-calcique reflète l'état de sursaturation urinaire mais aucune corrélation stricte avec la cristallurie n'a pu être établie et sa valeur prédictive du risque lithogène paraît limitée. Le rapport molaire oxalo-calcique déterminerait par contre directement le mode de cristallisation, l'hypercalciurie étant particulièrement propice à la formation de cristaux de weddellite et l'hyperoxalurie au développement de cristaux de whewellite.

Le rapport citraturie/calciurie a un pouvoir discriminant majeur qui témoigne du rôle fondamental de la citraturie dans le processus lithogène oxalocalcique urinaire. Cet indicateur très simple présente un intérêt potentiel dans le cadre du dépistage et de la surveillance de patients particulièrement exposés à la récidive.

Baggio B. propose de quantifier le risque lithogène oxalocalcique urinaire grâce à trois rapports molaires urinaires (Baggio B. *et al,* 1982) :

Oxalurie/citraturie,

Oxalurie/mucopolysaccaridurie,

Oxalurie/citraturie mucopolysaccharidurie.

Il attribue un intérêt primordial à ce troisième rapport qui peut être évalué non seulement sur des urines de 24 heures mais encore sur une simple miction matinale. Sa méthodologie est techniquement accessible et aisément reproductible mais occulte étonnement la calciurie.

1.7.6.2. Indice de risque lithogène

Au-delà des dérivés directs du produit molaire oxalo-calcique tels les nomogrammes de Marshall R.W. et Robertson W. G., plusieurs indices de risque lithogène ont été successivement élaborés :

L'indice de saturation-inhibition proposé par Robertson en 1976 est établi par l'équation :

$$SII = \frac{\log RS - 0{,}0073AI - 0{,}612}{\left[1 + (0{,}00073)^2\right]^{1/2}}$$

Avec : RS = sursaturation urinaire relative en oxalate de calcium,

AI = activité inhibitrice urinaire calculée en fonction du retard de formation de volumineux cristaux ou d'agrégats dans un milieu expérimental de cristallisation pendant une période d'incubation de 24 heures.

L'indice de probabilité de formation lithiasique présenté par Robertson en1978 se calcule selon la formule: $PSF = \frac{\alpha(PD1)\alpha(PD2)....\alpha(PDn)}{1+\alpha(PD1)\alpha(PD2)....\alpha(PDn)}$

Où : PD représente le paramètre discriminant et α le facteur de risque relatif.

Le calcul de cet indice nécessite l'évaluation préalable du pH des urines ainsi que des concentrations molaires urinaires des principales substances lithogènes et inhibitrices, non seulement de sujets lithiasiques mais encore d'une population témoin strictement comparable. Ces mesures permettent la détermination de paramètres discriminants spécifiques d'un échantillon puis d'un facteur de risque relatif correspondant, pour chaque niveau de valeur de l'excrétion considérée, au rapport de la fréquence des lithiasiques à celle des témoins.

Les index de Robertson sont théoriquement valables mais leur méthodologie est particulièrement lourde. Le protocole d'évaluation du pouvoir inhibiteur des urines ainsi que

les impératifs liés à la sélection d'une population témoin adéquate limitent ainsi leurs applications cliniques.

A la suite de travaux préliminaires complexes faisant intervenir le pouvoir inhibiteur des urines, Tiselius a proposé une série de formules destinées à évaluer le produit d'activité oxalocalcique urinaire. L'index d'activité oxalocalcique urinaire est ainsi initialement établi par l'équation: $AP(Ca,Ox) = 3{,}8.Ca^{0,71}.Ox.Mg^{-0,14}.Ci^{-0,1}.V^{-1,2}$.

La calciurie (Ca), l'oxalurie (Ox), la citraturie (Ci) et la magnésiurie (Mg) sont exprimées en millimole et la diurèse (V) en litre. Les dosages portent sur des prélèvements d'urines de 24 heures.

Les versions simplifiées de cet indice correspondent aux formules:

$AP(Ca,Ox) = Ca^{0,71}Ox.V^{-1,2}$,

$$AP(Ca,OX) = \left(\frac{Ca}{Cr}\right)^{0,71}.\left(\frac{Ox}{Cr}\right).$$

La créatininurie (Cr), exprimée en millimole, est destinée à neutraliser certaines imperfections du recueil des urines de 24heures.

La dernière variante est strictement corrélée à l'état de sursaturation oxalo-calcique urinaire et fait intervenir un coefficient multiplicateur (A) dépendant de la durée du recueil des urines: $AP(ca,Ox) = A.Ca^{0,84}.Ox.Mg^{-0,12}.Ci^{-0,22}.V^{-1,03}$.

Où Ca, Ox, Mg, Ci et V correspondent respectivement aux quantités (millimoles) de calcium, oxalate, magnésium et citrate excrétées pendant la période de prélèvement et V au volume uriné simultanément.

L'indice de risque lithogène proposé par Parks se détermine dans les deux sexes, sur la base des concentrations (mg/l) en calcium et en citrate sur un prélèvement d'urines de 24 heures (Parks et al, 1986), selon les équations :

Pour les hommes : $IM = 0{,}00624.Ca - 0{,}00461.Ci + 0{,}87922$

Pour les femmes : $IW = 0{,}02053.Ca - 0{,}00548.Ci + 0{,}224$.

Exclusivement pour les sujets de sexe masculin, ce potentiel lithogène peut aussi être quantifié, en fonction de la calciurie (mg/g de créatinine urinaire) et de la citraturie (mg/l) par la formule: $IM = 0{,}0149.Ca - 0{,}00336.Ci - 0{,}3491.$

Le pouvoir discriminant élevé de l'indice de Parks confirme l'importante activité inhibitrice du citrate, qui ne se limite vraisemblablement pas à la simple formation de complexes solubles avec le calcium.

Le coefficient de sursaturation oxalo-calcique urinaire peut être établi à partir de données de base limitées au pH ainsi qu'aux concentrations totales, exprimées en moles par litre, en sodium, potassium, calcium, magnésium, acide urique, chlorure, ammoniaque, citrate, phosphate, sulfate, oxalate, pyrophosphate et CO_2. Le programme EQUIL2 calcule ainsi la concentration des ions libres et des complexes puis la force ionique, l'activité des ions libres, le produit d'activité et enfin le coefficient de sursaturation.

Permettant une détermination instantanée de l'état de sursaturation oxalo-calcique des urines, le programme EQUIL2 représente volontier une référence théorique mais sa complexité méthodologique pénalise ses applications pratiques. Le protocole devrait cependant pouvoir être allégé de la quantification de quelques paramètres d'intérêt relativement mineur (acide urique, pyrophosphate et CO_2). Etant donné l'extrême variabilité du risque lithogène urinaire, l'opportunité d'une telle évaluation instantanée est toutefois fondamentalement discutable (Robert *et al,* 1996).

1.8. Analyse des calculs urinaires

1.8.1. But de l'analyse des calculs urinaires

L'intérêt physiopathologique et clinique de l'analyse des entités biologiques n'est plus à démontrer. Dans le cas des calculs rénaux (Daudon M., 2005), cette démarche est en effet un passage obligé si l'on désire identifier clairement la cause de la maladie lithiasique. En raison de sa nature multiphasique (plus de 100 constituants ont été identifiés à ce jour dans les calculs urinaires), seule une démarche couplant plusieurs techniques autorise une caractérisation fiable. En effet, le diagnostic étiologique doit prendre en compte non seulement le constituant principal, mais aussi les corps minoritaires qui lui sont associés et dont certains orientent d'une manière décisive le diagnostic étiologique (Daudon M., 2003 ; Daudon M., 2004b).

Un calcul n'est pas seulement un obstacle, parfois douloureux, sur les voies urinaires justifiant un geste urologique d'urgence pour rétablir leur perméabilité. C'est avant tout le symptôme de pathologies cristallogènes ou de déséquilibres urinaires d'origine nutritionnelle dont la récidive est la règle si la cause n'en a pas été correctement identifiée. Il est confirmé par plusieurs travaux que le calcul est la source d'informations irremplaçables sur les conditions de la lithogenèse, les facteurs de croissance, l'activité récente ou ancienne de la lithiase, l'existence de processus particuliers de nucléation hétérogène par cristallisation d'une espèce sur une autre, etc. (Daudon M., **2003** ; EL-Kabbaj *et al*, 2000 ; Daudon M., 2007 ; Otnes, 1983). Il permet également de savoir si la nucléation et la croissance du calcul sont sous la dépendance des mêmes facteurs ou si, au contraire, ceux-ci sont totalement différents ou ont évolué dans le temps. L'analyse du calcul est la première phase de la recherche des causes de la lithiase urinaire, dans le but de reconstituer son histoire afin d'éviter les récidives (Daudon M., 2007 ; Grafe J.D. ; Revue Médicale Suisse Numéro : 2289).

1.8.2. Méthodes d'analyse

1.8.2.1. Méthodes chimiques

La présence des calculs dans les urines est due à la concrétion et la cristallisation de substances et sursaturation. Les substances chimiques les plus fréquemment rencontrées sont par ordre de fréquence décroissante : les oxalates de calcium, les phosphates calciques et ammoniaco-magnésiens, les acides uriques et urates, les protéines diverses, la cystine. La détermination de la composition chimique constitue un des éléments-clé du diagnostic étiologique. Celle-ci est effectuée qualitativement depuis de nombreuses années par des méthodes chimiques classiques, utilisées dans de nombreux laboratoires, des coffrets de réactifs prêts à l'emploi étant à la disposition des biologistes. En pratique, le calcul est dissout dans l'acide sulfurique dilué, puis divisé en aliquotes sur lesquels on effectuera différentes réactions permettant de reconnaître les ions oxalate, calcium, phosphate, ammonium et magnésium sans grande difficulté. En fonction de la quantité de matière disponible et des caractéristiques (sensibilité, spécificité) de chacune des réactions chimiques mises en œuvre, de faux résultats positifs ou négatifs sont possibles. La quantification est très délicate, voire impossible par ces techniques Daudon M., 1998). Elles fournissent la composition moléculaire brute mais rarement la forme cristalline (difficulté à différencier la whewellite de la weddellite, l'acide urique anhydre de l'acide urique dihydraté ou de la 2,8-DHA, les apatites de la brushite ou des PACC ou POC, etc.).

L'analyse chimique, la plus ancienne des méthodes d'analyse des calculs, a été supprimée de la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale et remplacée par une analyse morpho-constitutionnelle fondée sur des méthodes physiques beaucoup plus fiables et informatives. Cette méthode d'identification est peu précise et la fiabilité n'est que de 40% environ. Par ailleurs, c'est une méthode destructive et nécessite quelques milligrammes d'échantillons pour l'analyse (Jhaumeer-Laulloo S. et Subratty A. H., 1999). L'analyse qualitative d'un certain nombre de constituants (parmi les plus fréquents) des calculs urinaires constitue une première approche dans le diagnostic étiologique des lithiases urinaires et l'orientation du suivi thérapeutique des patients. Elle doit impérativement être conduite en parallèle avec des analyses morphologiques (loupe binoculaire, microscopie optique) et/ou une identification moléculaire et cristalline (diffraction aux rayons X, spectophotomètrie infrarouge). En raison de sa nature, le calcul doit faire l'objet d'une analyse précise et fiable. Les méthodes optiques et chimiques couplées et rationnellement exploitées peuvent dans la majorité des cas fournir des informations suffisantes sur la composition et l'étiologie du calcul (Daudon M., 1993 ; 2007).

1.8.2.2. Méthodes physiques

Pour comprendre les mécanismes de la formation des calculs urinaires, les chercheurs font appel aux grands instruments de la physique. Selon les informations obtenues sur le calcul, les techniques physiques sont classées en deux catégories : les techniques sélectives et les techniques globales.

1.8.2.2.1. Techniques physiques globales

Ces techniques renseignent sur la constitution générale du calcul ainsi que sa stucture, du noyau à la périphérie.

- **Stériomicriscopie (la loupe binoculaire)**

La première phase de l'analyse est la détermination du type morphologique du calcul. Pour cela, on utilise une loupe binoculaire éclairée par fibres optiques et permettant un grossissement variable compris entre 10 et 40 fois. L'examen optique a pour objet de définir la structure du calcul en fonction des caractéristiques de sa surface (texture, aspect des cristaux, couleur, particularités morphologiques comme une ombilication papillaire avec une plaque de Randall). L'ensemble de ces éléments morphologiques peut être synthétisé sous la

forme d'un (ou de plusieurs) type(s) morphologique(s) (Daudon M., 2007). Sont également retenues dans le cadre de l'analyse morphologique, les informations suivantes, fondamentales pour l'interprétation :

- la ***couleur***, qui renseigne parfois non seulement sur la composition, mais aussi sur l'activité de la lithiase : plus un oxalate de calcium est sombre, plus son activité est faible donc le trouble métabolique ancien,
- les ***ombilications*** papillaires, qui révèlent l'origine du calcul, éventuellement distincte du trouble métabolique contemporain du diagnostic. Ainsi, la découverte d'une plaque de Randall évoque la présence d'un composé qui a servi de noyau lors de la constitution initiale du calcul,
- les ***faces d'accolement***, qui démontrent que plusieurs calculs étaient présents « in situ » même si un seul calcul a été retrouvé, surtout en cas d'émission spontanée.

- **Microscopie électronique à balayage (MEB)**

Un microscope électronique à balayage permet une connaissance détaillée de la topographie d'un échantillon rendue possible par la détection des particules émises suite au balayage de sa surface par un faisceau d'électrons. Les particules émises permettent de reconstituer la structure de la surface balayée et les images obtenues permettent sa description de détails de l'ordre d'une dizaine de nanomètres.

C'est une étape d'observation et de description des caractères morphologiques superficiels et internes du calcul avec prélèvement de toutes les zones représentatives telle que la surface, la section ainsi que les couches périphériques et profondes. Cette technique vient compléter les informations recueillies par la stéréomicroscopie et présente l'avantage d'obtenir une composition chimique et cristalline du calcul. On obtient un micrographe sur lequel les cristaux constitutifs sont représentés dans l'espace (en 3D).

- **Microscopie optique à lumière polarisée (MOLP)**

Au même titre que la microscopie électronique à balayage, la microscopie optique fournit des informations sur la composition chimique et cristalline du calcul. Elle est plus employée dans l'étude de la cristallurie pour l'observation des cristaux urinaires. Mais grâce à la polarisation de la lumière qu'elle engendre, il est possible de reconnaitre les cristaux les plus fréquents des calculs soupçonnés par l'observation à la loupe binoculaire. De ce fait, elle est couplée à la stéréomicroscopie.

- **Techniques de diffraction: Les diffractions aux rayons X et neutroniques**

Ceux sont des techniques d'analyse des informations chimiques élémentaires ou structurales suite à l'exploitation des phénomènes d'interaction des rayons X avec la matière. Elles permettent l'identification, la caractérisation et l'analyse quantitative des phases des différentes formes de cristallisation des solides (Bazin D. *et al,* 2010).

Toute matière irradiée par un faisceau de photons, d'électrons ou de neutrons émet dans toutes les directions un rayonnement de même énergie (ou d'énergie très voisine). C'est le phénomène de diffusion. L'onde diffractée résulte d'une combinaison d'ondes cohérentes (même énergie et même phase) diffusées par chaque atome qui interfère. Lorsque l'on analyse l'intensité du faisceau émergeant généré par cette diffraction, l'agencement des atomes au sein de l'échantillon est alors dévoilé. Une fois connues les structures cristallographiques des phases chimiques présentes, on peut accéder à la composition chimique de l'échantillon (Ancharov *et al,* 2007).

La connaissance de la structure cristallographique constitue un axe de recherche privilégié pour la diffraction neutronique en raison de l'abondance des éléments légers (par exemple l'hydrogène : H, l'oxygène : O, le carbone : C ou l'azote : N) dans la formule stœchiométrique des principaux constituants. Sur le plan médical, il est important de déterminer le nombre de molécules d'eau (H_2O) présentes pour apprécier les facteurs de lithogénèse et d'évolution des phases constituées et on utilise donc cette sensibilité aux éléments légers (Bazin *et al,* 2007).

L'établissement du diagnostic médical s'effectuant sur l'ensemble du calcul, il est essentiel de mesurer la taille moyenne des nanocristaux composant le calcul en prenant en compte l'ensemble de la masse du calcul (de dimension millimétrique) sans altérer son intégrité physico-chimique. Les diagrammes de diffraction collectés indiquent alors (par le biais des largeurs des raies de diffraction) la dimension des nanocristaux.

Deux caractéristiques des échantillons font de la diffraction de poudre neutronique un outil particulièrement adapté : la première est la présence de phases chimiques majoritairement constituées d'éléments légers (H, O, N, C) et la seconde est le fait que la mesure de la taille des nanocristaux peut s'effectuer sur l'ensemble de l'échantillon.

Lorsque la quantité de matière est réduite comme c'est le cas des plaques de Randall, l'on procède à des expériences de diffraction des rayons X. Il est alors possible d'utiliser des microfaisceaux dont les dimensions sont de quelques centaines de nanomètres.

Ainsi, dans le cas des calculs urinaires composés d'oxalates, les différents composés comme l'oxalate de calcium monohydraté ($CaC_2O_4.H_2O$) ou l'oxalate de calcium dihydraté ($CaC_2O_4.2H_2O$) sont bien identifiés en diffraction X. La diffraction des rayons X permet d'obtenir à partir d'un diagramme, et donc de mesurer à l'échelle macroscopique, une information à l'échelle du nanomètre, à savoir l'agencement spatial des atomes (Bazin et al., 2006). Les techniques de diffraction des rayons X et neutroniques sont deux techniques complémentaires. La diffraction neutronique permet une analyse de l'ensemble de l'échantillon. On profite ainsi de la grande pénétration des neutrons dans la matière. D'autre part, les différents constituants d'un calcul rénal, comme les oxalates de calcium, les phosphates de calcium ou les acides uriques sont associés à une ou plusieurs molécules d'eau, facilement distingués par rayon X. Toutefois, ses inconvénients sont qu'elle ne permet pas l'analyse des échantillons amorphes (invisibles aux rayonnements X), et est assez coûteuse.

- **Analyse thermique différentielle et gravimétrique (ATD/ATG)**

Son principe est basé sur la mesure de la différence de température entre un échantillon et un matériau de référence ainsi que les variations de masse de cet échantillon suite à une programmation de température et sous une atmosphère contrôlée. L'ATG permet de suivre la variation de la masse de l'échantillon en fonction de la température tandis que, l'ATD consiste à suivre la variation de la température de l'échantillon et celle d'un corps témoin inerte, dépourvu de tout effet thermique dans le domaine de température étudié. Les molécules de faible poids moléculaire telles que l'eau (H_2O) et le dioxyde de carbone (CO_2) s'élimine sous l'effet de la température qui leur est caractéristique. Cette méthode est également utilisée pour différencier les oxalates de calcium (whewellite de la weddellite), les acides uriques (anhydre et dihydraté) en fonction des nombre de molécules d'eau et pour la détermination du taux de carbonatation les phosphates calciques tel que la carbapatite.

- **Spectroscopie de Raman**

A la fin des années 1930, la spectroscopie Raman était devenue la principale méthode non-destructive d'analyse chimique. Il s'agit de la méthode spectroscopique dotée de la

meilleure résolution (un micron) pour l'identification et la caractérisation de composés ou de phases. Sa capacité à identifier les systèmes amorphes est aussi inégalée. Les informations apportées par la spectroscopie Raman sont relativement étendues: identification de phases ou de composés chimiques, caractérisation des matériaux, détermination de la structure moléculaire, étude des systèmes amorphes et cristallins, (Galaup, 2006). Ses performances sont particulièrement remarquables. Le spectre Raman d'un composé indique donc aussi bien le type de liaison d'un composé que sa structure cristalline. Moins utilisée en raison de son coût, elle présente toutefois un certain nombre d'avantages : elle est non destructive et garantit de l'intégrité de l'échantillon (sous réserve de puissance laser), nécessite peu de matière et présente une grande résolution spatiale, utilisable quel que soit l'état physique du matériau : solide amorphe ou cristallisé, liquide ou gazeux, etc.

En spectrométrie Raman, l'analyse se fait par excitation du matériau. Porté à un niveau énergétique virtuel par une puissante source lumineuse monochromatique de type laser, il réémet ensuite une radiation qui est collectée puis analysée par un détecteur adéquat (Loader, 1970). Dans la plupart des cas, la spectroscopie Raman permet d'obtenir à peu près le même type de résultats que la spectroscopie infrarouge, bien que le principe de la méthode soit différent.

- **La spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (SIR-TF ou en anglais FT-IRS : Fourier Transform Infrared Spectroscopy)**

Certains composés sont significatifs que par leur présence au sein du calcul : médicaments, métabolites spécifiques, etc. En revanche, l'identification des phases cristallines, la quantification des constituants les plus courants (oxalates, phosphates etc.) et leur localisation au sein du calcul sont essentielles au diagnostic étiologique et au pronostic clinique. La quantification molaire est donc importante. Elle repose sur la spectrophotométrie infrarouge puisque les méthodes chimiques classiques ne permettent pas sa détermination.

Son principe est basé sur l'interféromètre de Michelson de la vibration des molécules suite à l'absorption sélective des radiations infrarouges par certains groupements présents au sein du composé analysé. Les signaux électriques correspondants à ces vibrations sont transformés automatiquement en un spectre IR grâce à l'interface d'un ordinateur par une opération mathématique appelée transformée de Fourier.

L'analyse infrarouge est bien adaptée à la reconnaissance des composés minéraux aussi bien qu'organiques ; amorphes ou cristallins, purs ou mélangés. Elle différencie les espèces cristallines d'un même composé.

En pratique, l'analyse infrarouge repose sur la technique du pastillage, qui comporte 7 étapes allant du prélèvement de la zone à analyser à l'enregistrement du spectre IR (Daudon M., 2007).

1.8.2.2.2. Techniques physiques sélectives

- **Spectroscopie d'absorption X**

Efficace en tant que technique d'analyse depuis maintenant deux décennies, l'EXAFS (Extended X-ray absorption fine structure) a connu et connaît encore un essor considérable. Ce moyen d'investigation est particulièrement adapté aux matériaux dépourvus d'ordre à grande distance tels que les matériaux amorphes ou les petits agrégats qui se caractérisent par un arrangement spatial régulier des atomes sur des distances de l'ordre de quelques nanomètres. Dans ce cas, la diffraction aux grands angles (diffraction des rayons X) n'apporte pas d'informations substantielles et la spectroscopie d'absorption X s'affirme comme une technique plus adaptée (Bazin D. *et al*, 2006). Cette technique possède une sélectivité chimique puisque chaque élément est associé à une énergie d'absorption spécifique.

- **Spectroscopie d'absorption atomique**

C'est une technique d'analyse élémentaire des métaux qui rentrent dans la constitution d'un échantillon. Son principe est basé sur l' exploitation des phénomènes d'absorption de radiations par des substances atomisées dans une flamme chaude obtenue par un mélange acétylène/air ou acétylène/protoxyde d'azote. Les éléments peuvent être quantifiés même à l'état de trace. Elle présente l'inconvénient d'utiliser une lampe de longueur d'onde spécifique pour chaque type d'élément métallique.

- **Spectrométrie de masse à couplage au plasma inductif (SM-CPI ou ICP-MS)**

L'ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) est une technique d'analyse multi-élémentaire inorganique, au même titre que l'ICP-AES (spectrométrie d'émission atomique à couplage au plasma inductif). Ces techniques sont basées sur la

création d'un plasma constitué d'un volume d'argon chaud (6000 à 10000 °K). Ce plasma est confiné par un champ magnétique de fréquence radio. L'échantillon, mis sous forme liquide, est amené dans le plasma sous la forme d'un aérosol. Dans le plasma, les composés présents se décomposent en atomes qui sont ensuite ionisés presque complètements. Dans le spectromètre de masse, les ions positifs sont filtrés en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z) qui permet l'identification de l'élément. La concentration, elle, est proportionnelle au nombre d'ions. Dans le cas des calculs urinaires, l'échantillon est carbonisé puis dissout par attaque acide afin d'obtenir une solution minérale à analyser.

Les principes de l'ICP-MS sont assez simples. Pour presque tous les éléments présents dans un échantillon, des ions peuvent être générés par une source ionisante convenable, comme par exemple une induction du plasma couplé. Les ions sont physiquement extraits du plasma vers un spectromètre de masse puis mesurés par un détecteur d'ions. Ce processus de sélection par la masse est rapide et l'instrument est capable d'obtenir des spectres pour tous les éléments compris entre le lithium (^{7}Li) et l'uranium (^{238}U) en environ une minute (Bellot-Gurlet Ludovic, 1998).

Les techniques sont complémentaires, avec un avantage à l'ICP optique pour les concentrations élevées, mais l'ICP-MS présente une sensibilité beaucoup plus grande : de 10 à 1000 fois plus sensible. De plus, par rapport à certains ICP optiques, la mesure est quasi simultanée et permet donc de mesurer un grand nombre d'éléments en un court laps de temps. Enfin, il est possible de réaliser des mesures isotopiques, exploitables par exemple pour déterminer la traçabilité d'échantillons.

- **Chromatographie liquide à haute performance (C.L.H.P. ou H.P.L.C. en anglais)**

La chromatographie CLHP est une technique d'analyse des composés organiques. Elle est très utilisée dans tous les domaines de la chimie analytique. Son succès est dû au fait qu'il est possible de modifier la résolution en jouant sur la composition de la phase mobile. Elle utilise des colonnes remplies d'une phase stationnaire constituée de particules sphériques de très petites dimensions de diamètre couramment compris entre 2 et 5 µm ce qui conduit à de grandes efficacité et résolution.

La CLHP est très utilisée comme méthode d'analyse qualitative et quantitative, la plupart des contrôles de qualité et divers dosages de l'industrie chimique, la plupart des analyses biologique etc… sont actuellement largement effectués grâce à cette technique qui peut être

entièrement automatisée pour toutes les analyses de routine dont les conditions opératoires sont parfaitement connues et maîtrisées. On utilise alors des injecteurs automatiques des échantillons.

un détecteur par spectroscopie UV-Visible mesure l'absorbance absolue d'un solvant + soluté ou la différence d'absorbance entre le solvant et le solvant + soluté (en présence d'une cellule de référence) à longueur d'ondes fixe de 254 ou 280 nm ou à longueur d'ondes variable entre 190 et 800 nm ou à longueurs d'onde multiples comme les réseaux de diodes. L'inconvénient principal est que pour pouvoir être détectée la substance doit posséder des groupements chromophores (doubles liaisons par exemple). Dans le cas des calculs urinaires, elle a fait l'objet de technique d'analyse des purines (acide urique et urates), la cystine, la 2,8-dihydroxyadénine, la xanthine et ses dérivés (Krzysztof *et al*, 2005).

1.9. Conclusion

L'étude bibliographique nous a permis de parcourir un grand nombre de résultats des travaux antérieurs dédiés à la lithiase urinaire. Il est à retenir de cette partie que l'épidémiologie des lithiases urinaires dépend de plusieurs facteurs et son étiologie varie en fonction du niveau de vie et des habitudes alimentaires, les facteurs d'environnement étant également pris en considération.

Il est nécessaire de connaître les grandes étapes de la lithogenèse, il serait encore mieux de comprendre les facteurs qui conduisent à la formation des calculs chez un patient donné afin de leur opposer des mesures prophylactiques préventives, diététiques ou thérapeutiques adaptées et donc plus efficaces. Certains processus lithogènes restent encore imparfaitement élucidés, comme la formation des plaques de Randall. Les recherches à la fois fondamentales et cliniques se poursuivent pour mieux comprendre ces processus cristallogènes.

Si la majorité des travaux a pu établir une relation entre la composition d'un calcul et l'étiologie de sa lithiase, d'autres demeurent jusqu'à présents idiopathiques. D'autres travaux devraient être consacrés à cette préoccupation dans l'espoir d'en tirer le maximum d'informations sur les résultats des analyses par couplage de plusieurs techniques d'analyse morpho-constitutionnelle en vue de compléter l'étiologie de la lithiase urinaire.

Chapitre 2

Matériels Et Techniques Expérimentales

2.1. Introduction

Le but de ce travail est la recherche des paramètres qui interviennent dans le développement de la lithiase urinaire allant de la cristallogenèse (point de départ de la formation des cristaux) à la lithogenèse. Le calcul représente une source d'informations irremplaçables sur la vie d'une lithiase, l'accès direct aux paramètres étiologiques incriminés passe par la connaissance de sa composition chimique et cristalline. Ces derniers étant le résultat de la cristallisation de certaines substances dans le milieu urinaire, l'étude de la cristallurie occupe une place importante dans la compréhension du processus de la lithogenèse, son étude est également présentée dans ce chapitre. La lithiase oxalo-calcique devenue la plus fréquente de nos jours, indépendamment de la région et des modes de vie, une étude de l'influence de la calciurie et de l'oxalurie, respectivement concentration des ions calciums et oxalates sur la formation de cristaux d'oxalate de calcium et par suite, du calcul d'oxalate de calcium dans certaines conditions de sursaturation urinaires, constitue également un paragraphe dans ce chapitre.

La spectroscopie infrarouge moyen à transformée de Fourier (SIR-TF) est présentée dans la plupart des travaux dédiés à l'exploration des lithiases comme technique de référence pour l'analyse morpho-constitutionnelle des calculs urinaires. Cependant, compte tenu des difficultés liées au dépouillement des spectres obtenus (calculs mixtes), il est nécessaire de la coupler avec d'autres techniques telles que les techniques microscopiques et cristallographiques. Il faut également signaler que la SIR-TF n'est pas toujours accessible dans des laboratoires de routine tels que ceux d'analyses médicales. C'est dans cette optique que nous abordons une approche de l'analyse des calculs par la microscopie optique à lumière polarisée (MOLP) couplée à la stéréomicroscopie binoculaire (SMB) et par microscopie électronique à balayage (MEB).

D'un point de vue chimique, certains éléments-traces peuvent jouer un rôle déterminant dans la croissance de biomatériaux. D'autre part, leur rôle en tant que facteur de risque sur la lithogenèse a fait l'objet de plusieurs travaux (Bazin D. et Daudon M., 2010 ; Bazin D. et al, 2007). Les calculs sont le plus souvent analysés par fluorescence X ou par spectrométrie d'émission atomique couplée au plasma inductif (ICP-AES) (Bazin D. et al., 2008 ; Ludovic Bellot-Gurlet, 1998). La spectrométrie de masse couplée au plasma inductif (ICP-MS) est une technique d'analyse multi-élémentaire des matériaux dont l'avantage par rapport ICP-AES est qu'elle permet de déterminer simultanément les concentrations d'environ 38

éléments. Nous l'avons appliqué à l'analyse multi-élémentaire par des calculs urinaires en vue de déterminer leur teneur, leur distribution ainsi leur rôle dans la lithogenèse.

2.2. Echantillonnage de calculs urinaires

Dans le dessein d'intégrer les facteurs de risque extrinsèques tels que les facteurs d'environnement (géographiques, saisonniers, raciaux, socio-économiques et les styles de vie), les travaux ont été menés comparativement sur des séries d'échantillons provenant de deux pays différents : une série de 76 calculs urinaires collectés auprès de l'l'hôpital du district de Yagoua, situé dans la partie septentrionale du Cameroun et une autre série de 137 calculs provenant de l'hôpital régional de Béni Mellal au Maroc. Pour mieux présenter et comprendre les protocoles expérimentaux utilisés dans ce travail, quelques calculs choisis dans les deux séries ont fait l'objet d'examen à l'œil nu puis photographiées. Les images correspondantes sont présentées dans les figures 10 à 20. Il est à relever qu'à cette étape d'analyse macroscopique, des premières informations relatives au typage morphologique et à la classification étiologique (couleur, texture, friabilité, homogénéité des couches) ont été tirées.

Figure 10: Calcul vésical extrait par chirurgie ; surface lisse et bosselée, de couleur beige à orangée

Figure 11: Calcul vésical extrait par chirurgie, rugueux, bourgeonné, aspect crème brun foncé à brun noir, légère voile grisâtre.

Figure 12: Calcul vésical extrait par chirurgie : surface très peu bosselée de couleur beige à orange

Figure 13: Calcul vésical extrait par chirurgie : rugueux, mamelonné, brun jaune ; section présentant de très fines couches sans cristallisation radiale.

Figure 14: Calcul vésical extrait par chirurgie : intérieur rougeâtre, surface périphérique blanc à beige.

Figure 15: Calcul vésical extrait par chirurgie ; surface lisse et dur, de couleur blanchâtre

Figure 16: Calcul vésical extrait par chirurgie ; surface plus ou moins homogène, cristaux soudés aux angles peu vifs, blanc

Figure 18: Calcul vésical extrait par chirurgie ; surface hétérogène, bosselée, intérieur rugueux et mamelonné.

Figure 19: Calcul vésical extrait par chirurgie ; cristaux aux angles peu vifs, blanc

Figure 20: Calcul vésical extrait par chirurgie ; cristaux épais et ternes aux angles émoussés, beige crème

2.3. Examen et typage morphologique par stéréomicroscopie binoculaire

2.3.1. Appareillage

La première étape de l'analyse morpho-constitutionnelle d'un calcul urinaire est l'examen macroscopique. Les calculs ont été observés à l'œil nu puis, sous une loupe binoculaire éclairée par fibres optiques et permettant un grossissement variable compris entre 10 et 40 fois (figure 21).

Figure 21: Loupe binoculaire

2.3.2. Principe

L'examen optique a pour objet de définir la structure du calcul en fonction des caractéristiques de sa surface (texture, aspect des cristaux, couleur, particularités morphologiques comme une ombilication papillaire avec une plaque de Randall ou une face d'accolement). Un noyau est défini, à l'origine étiologique de la cristallisation, une section regroupant les éléments intermédiaires et une périphérie, caractéristique des éléments métaboliques les plus récents. L'ensemble de ces éléments morphologiques est synthétisé sous la forme d'un (ou de plusieurs) type(s) morphologique(s). A cette étape d'analyse, la composition morpho-constitutionnelle peut être connue à environ 75% suivant le type d'échantillon. L'observation du calcul sous la loupe binoculaire n'est qu'une étape de

l'analyse à compléter par d'autres techniques donnant la composition chimique et cristalline telles que la microscopie optique à polarisation, la microscopie électronique à balayage et la spectrophotométrie moyen infrarouge à transformée de Fourier.

2.4. Analyse constitutionnelle par microscopie optique à lumière polarisée (MOLP)

2.4.1. Appareillage

Le microscope optique à lumière polarisée model Olympus BX41 (figure 22) du laboratoire de Spectrochimie Appliquée et Environnement de la FST de Beni Mellal-Maroc a été utilisé pour l'analyse constitutionnelle des calculs.

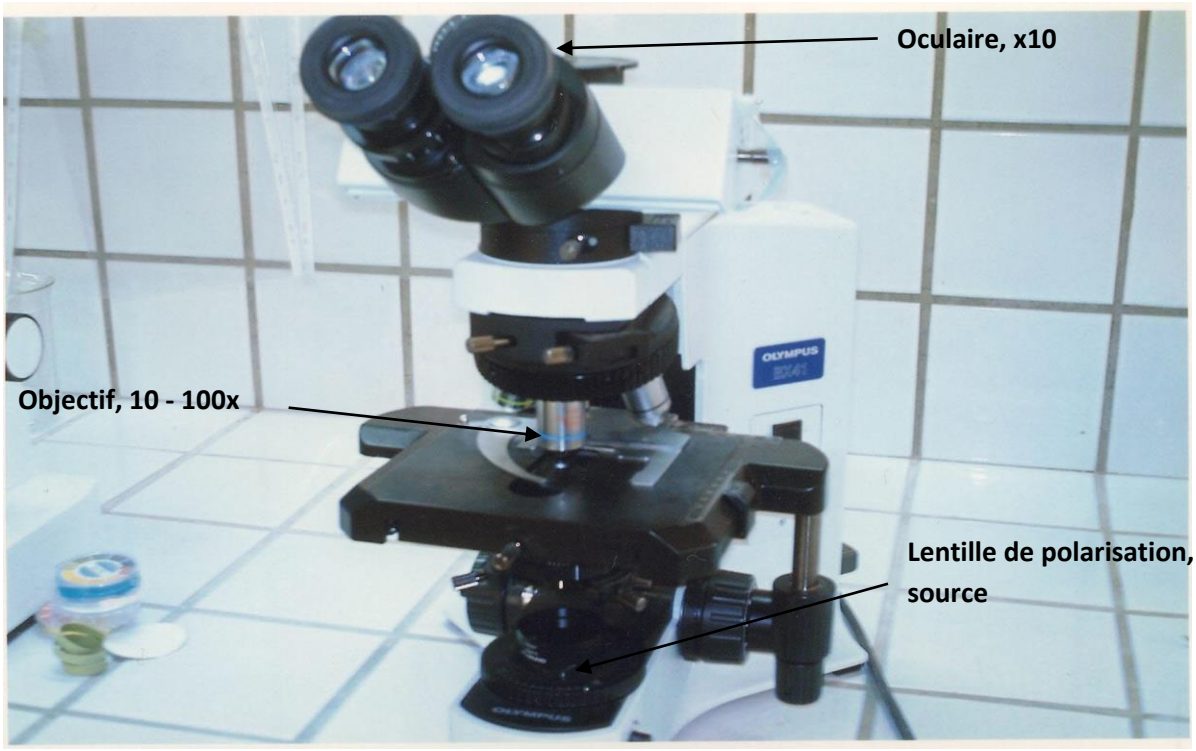


Figure 22: Microscope optique à lumière polarisée Olympus BX41

2.4.2. Principe

Une petite quantité de la zone de l'échantillon à analyser est prélevée à l'aide d'une pointe métallique (le scalpel, par exemple) puis, broyée dans un mortier en agate. Après ajout d'une petite quantité d'eau distillée et homogénéisation, deux à trois gouttes de la solution obtenue sont déposées sur une cellule de Malassez et couvertes d'une mince lamelle. L'ensemble du système est fixé devant l'objectif du microscope et les cristaux constitutifs de

l'échantillon de calcul sont observés en faisant varier la polarisation de la source lumière grâce au remontoir de la lentille de polarisation. Les cristaux vus sous polarisation de la lumière sont identifiés par comparaison à ceux de la cristallurie déjà décrits dans plusieurs travaux antérieurs et dans les laboratoires d'analyses médicales (Daudon M., Laboratoire de cristal). L'analyse est effectuée de manière séquentielle par des prélèvements de toutes les parties du calcul présentant une particularité, allant du noyau à sa couche périphérique. Les informations obtenues par stéréomicroscopie binoculaire sont complétées par celles de la MOLP. Dans la plupart des cas pratiques, l'examen optique est réalisé en complémentarité des deux techniques microscopiques (loupe binoculaire et MOLP).

2.5. Analyse constitutionnelle par microscopie électronique à balayage (MEB).

2.5.1. Appareillage

Pour les mêmes objectifs que le MOLP, le MEB a été utilisé pour l'analyse constitutionnelle des calculs. Les analyses ont été effectuées au laboratoire de Physique du Solide et des Couches Minces de la faculté des Sciences Semlalia de l'Université Cadi Ayyad de Marrakech-Maroc. Les échantillons ont été analysés séquentiellement par le microscope électronique à balayage, model *JEOL JSM-5500* (figure 23).

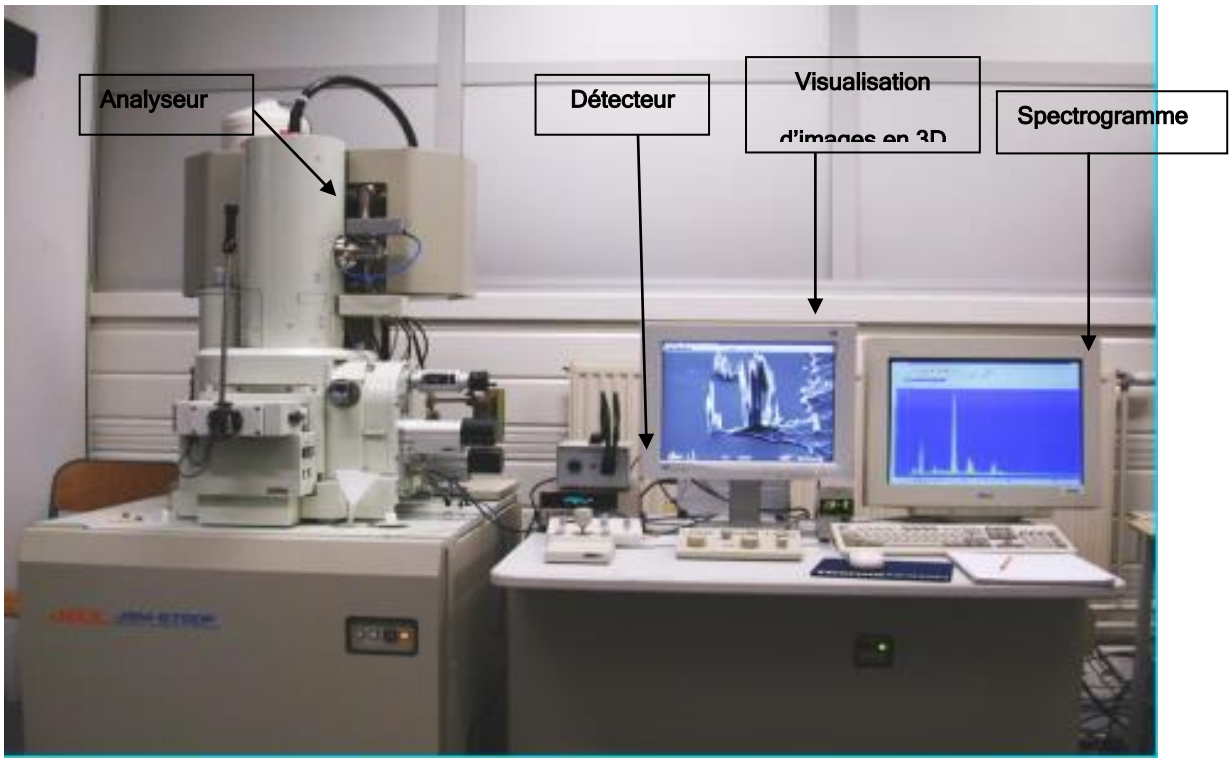


Figure 23: Microscope électronique à balayage, JEOL JSM-5500

2.5.2. Principe

Une portion de chacune des différentes zones est choisie selon la texture et la couleur ou une autre particularité présente afin d'obtenir une information complète sur le calcul. Les échantillons couverts d'une couche du carbone graphite afin d'éviter l'accumulation de charges à la surface, sont fixés sur une feuille d'aluminium du détecteur utilisant la bande du carbone comme conducteur. Les signaux du détecteur sont envoyés sur un écran qui permet d'obtenir les informations de la surface balayée par les électrons incidents, une image en 3D alors obtenue. La structure de l'échantillon est visualisée selon qu'elle est amorphe ou cristalline. Les micrographes des cristaux constitutifs du calcul sont comparés à des images de références (Ayala E. P., 2004 ; Juana Bellanato et al, 2009 ; Bazin et al, 2007) en tenant compte des informations obtenues de la loupe binoculaire. Un spectromètre X recueillant les particules X émises, effectue simultanément l'analyse élémentaire de l'échantillon. Un spectrogramme est visualisé sur un autre écran relié au détecteur. Il permet de donner la distribution élémentaire dans une zone donnée.

2.6. Analyse constitutionnelle par spectrophotométrie infrarouge moyen à transformée de Fourier (SMIR-TF).

2.6.1. Appareillage

L'analyse constitutionnelle par SMIR-TF a été effectuée au centre recherche de la faculté des sciences de l'université Sultan Moulay Ismaël de Meknès-Maroc. Le spectrophotomètre utilisé dans le présent travail est le model *Jasco FT/IR – 4100* (figure 24).

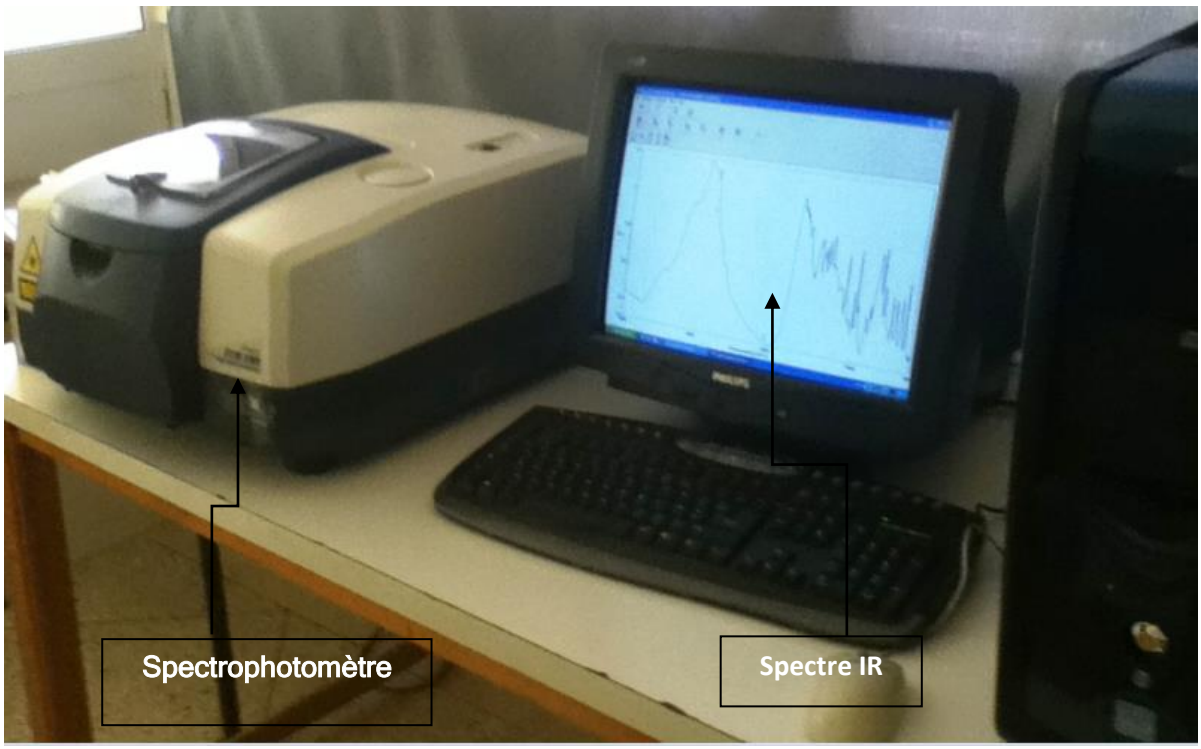


Figure 24: Spectrophotomètre model JASCO FT/IR - 4100

2.6.2. Préparation de l'échantillon : Pastillage

En pratique, l'analyse infrarouge repose sur la technique du pastillage, qui comporte 7 étapes (Daudon M., 2007) :

a) prélèvement de la zone à analyser à l'aide d'un scalpel ou d'une aiguille de couturière, voire d'une aiguille d'acuponcture pour les prélèvements les plus petits, et transfert dans un mortier en agate,

b) addition de poudre cristalline de bromure de potassium (KBr) pur (de qualité pour spectrophotométrie infrarouge) en quantité suffisante pour réaliser une dilution de l'échantillon comprise entre 0,5 et 3% dans le KBr,

c) mélange homogène et finement pulvérisé de l'échantillon dans le KBr avec un pilon en agate,

d) transfert du mélange pulvérisé dans un moule en acier spécial pouvant supporter une pression de 10 tonnes et permettant de confectionner des pastilles de 13 mm de diamètre. A noter que, pour les échantillons très petits comme une plaque de Randall, on peut utiliser moins de KBr et réaliser une micro-pastille de 2 ou 3 mm de diamètre,

e) formation d'une pastille transparente de 0,3 à 0,7 mm d'épaisseur à l'aide d'une presse hydraulique permettant d'appliquer une pression de 10 tonnes/cm^2. Pour les micro-pastilles, la pression requise est beaucoup la pression requise est beaucoup moindre, environ 500 kg/cm^2,

f) transfert de la pastille dans un support spécial que l'on insère dans le compartiment de mesure d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier,

g) enregistrement du spectre contre l'air utilisé comme référence. Un spectre initial est alors obtenu en instant. De ce fait, pour améliorer le rapport signal/bruit, on accumule une trentaine d'enregistrements du spectre, ce qui demande environ 1 minute. Le spectre obtenu est interprété par comparaison à des spectres IR de référence (Annexe 3) (Daudon M., Laboratoire de cristal; Naseem Aslam Channa et al. 2007; Selvaraju R. et al, 2012).

2.6.3. Principe de la spectrophotométrie IRTF

Le principe de la spectrophotométrie IRTF est basé sur l'interféromètre de Michelson de la vibration des molécules: Lorsque l'énergie apportée par un faisceau lumineux dans la gamme « moyen infrarouge » est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et l'intensité de lumière réfléchie ou transmise diminuera. On obtient un signal électrique appelé interférogramme, fonction du déplacement d'un miroir mobile (figure 25).

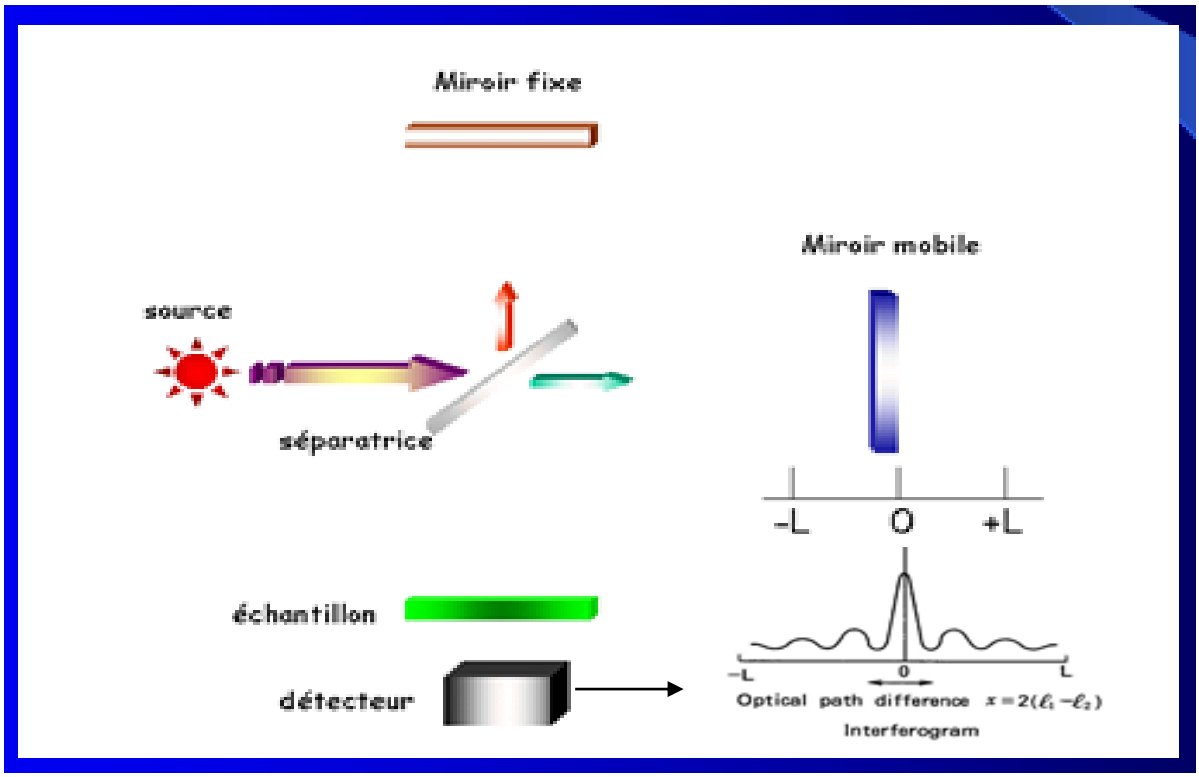


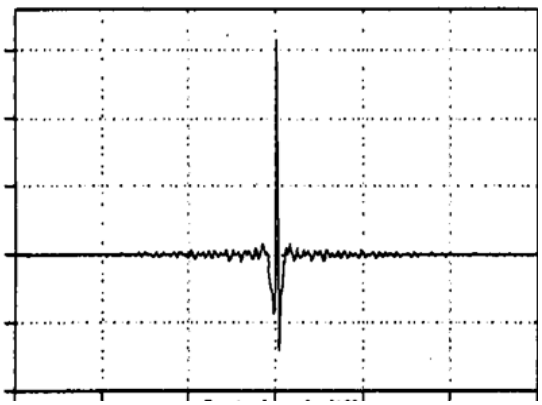
Figure 25: Principe de l'interféromètre de Michelson

Le signal électrique (intreférogramme) est transformé de manière automatique par une interface informatique en spectre infrarouge par une l'opération mathématique appelée transformée de Fourier dont l'équation empirique s'écrit :

$$F(\sigma) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(\Delta) e^{-i2\pi\sigma\Delta} d\Delta.$$

Avec : Δ = différence de chemin optique (différence de marche de la lumière) et

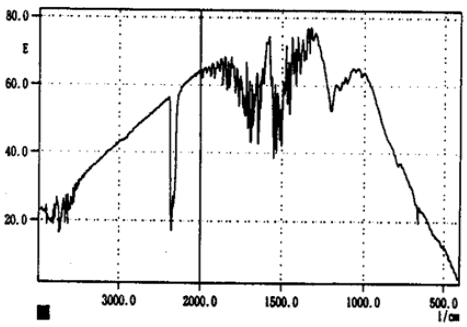
σ = 1/λ = nombre d'onde



Interférogramme

$$F(\sigma) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(\Delta) e^{-i2\pi\sigma\Delta} d\Delta.$$

Transformation de Fourier



Spectre IR

Le spectre IR obtenu renseigne sur les différents groupements dont la reconstitution conduit à la connaissance de la composition chimique du composé.

2.7. Analyse multi-élémentaire par spectrométrie de masse couplée au plasma inductif (ICP-MS).

Le rôle de certains éléments métalliques en tant que facteur de risque sur la lithogenèse est très souvent débattu par les auteurs spécialistes dans le domaine de l'urolithiase. Dans ce dessein, nous avons effectué une analyse multi-élémentaire des calculs par spectrométrie de masse couplée au plasma inductif (ICP-MS, Inductively Coupled Plasma–Mass Spectroscopy). Cette analyse s'effectue en deux étapes : la minéralisation des calculs par attaque acide et l'analyse des métaux dans la solution minérale obtenue.

2.7.1. Minéralisation des échantillons.

2 grammes de poudre de calcul pesés dans une nacelle sont calcinés dans un four tubulaire *LENTON* à 600°C pendant 2 heures. Chaque poudre minérale obtenue après la calcination est mise en solution par attaque acide d'eau régale (mélange d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique concentrés) selon le protocole suivant :

a) Placer les 2 grammes de l'échantillon calciné dans un bécher,
b) Verser dans chaque bécher, à l'aide d'un flacon doseur, 25 millilitres d'acide chlorhydrique concentré,
c) Placer sur plaque chauffante les béchers couverts de verre de montre, puis chauffer à douce ébullition pendant 15 à 20 minutes,
d) Ajouter dans chaque bécher, à l'aide d'un flacon doseur, 15 millilitres d'acide nitrique concentré,
e) Couvrir les béchers de verre de montre et chauffer à douce ébullition pendant une heure,
f) Ajouter dans chaque bécher, 25 millilitres d'acide nitrique concentré + 25 millilitres d'eau distillée,
g) Couvrir les béchers de verre de montre puis chauffer jusqu'à douce ébullition,
h) Retirer les verres de montre et continuer le chauffage jusqu'à réduction du volume (environ 50 millilitres),
i) Laisser refroidir, puis transvaser chaque solution d'attaque dans une fiole jaugée, puis ajuster au trait par l'eau distillée,
j) Agiter vigoureusement les fioles.

2.7.2. Protocole d'analyse des solutions minérales par ICP-MS.

2.7.2.1. Appareillage

Le spectromètre HORIBA JOBIN IVON, model *ACTIVA* (figure 27) du Centre Universitaire Régional d'Interface de l'Université Sidi Mohammed Ben Abdellah de Fès-Maroc, a été utilisé pour l'analyse multi-élémentaire de dix échantillons préalablement caractérisés par SIR-TF. Les éléments concernés par cette analyse sont notamment : calcium, chrome, cuivre, fer et zinc.

Figure 27: Spectrophotomètre HORIBA JOBIN IVON, model ACTIVA

2.7.2.2. Principe.

Le principe fondamental consiste à injecter au niveau du faisceau ionique de l'ICP-MS, un gaz spécifique qui devra interagir avec l'interférent ou l'analyte. Cette injection peut être réalisée soit dans une cellule spécifiquement installée au niveau de l'optique ionique, soit au niveau de l'interface de l'ICP-MS. Sous l'effet de la chaleur du plasma, les molécules sont atomisées puis ionisés. Un dispositif permet de séparer les différents cations en fonction de leur masse (figure 28).

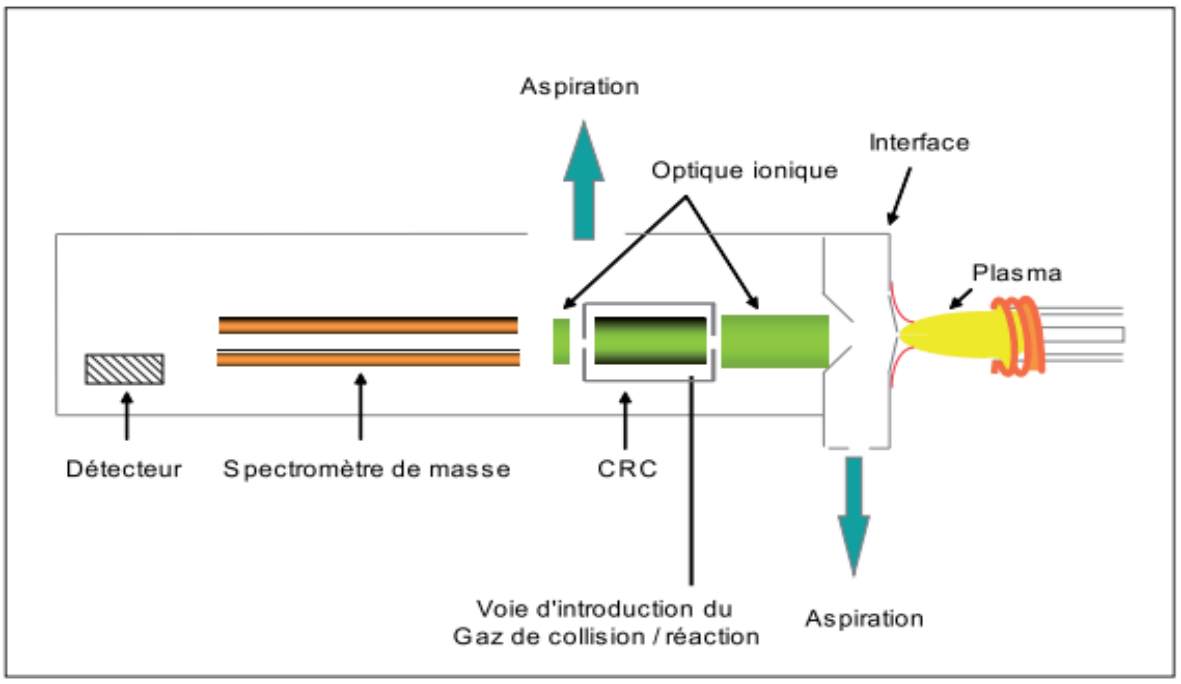


Figure 28: Schéma d'une cellule de collision/réaction (CRC)

2.7.2.3. Extraction des ions

L'échantillon est introduit sous forme de solution dans le plasma à l'aide d'un courant d'argon. Quand l'échantillon entre dans les régions de haute température, il est rapidement volatilisé, dissocié, excité et finalement ionisé. Les analytes émergent de la torche comme une mixture d'atomes, d'ions, de fragments de molécules non dissociées et de particules non volatilisées.

2.7.2.4. Séparation des ions selon leurs masses

Les spectromètres de masse utilisés sont des spectromètres à quadrupôles qui agissent comme un filtre de masse. Les ions à séparer sont introduits le long de l'axe par l'une des extrémités du quadrupôle avec des vitesses déterminées par leurs énergies et leurs masses. Les tensions alternatives appliquées entraînent tous les ions sur des chemins oscillants à travers les tiges. Si les tensions continues et alternatives sont convenablement choisies, seuls les ions ayant un rapport masse sur charge (m/Z) donné vont avoir un chemin stable entre les tubes et vont émerger par l'autre extrémité. Les autres ions trop fortement déviés vont frapper les tubes et seront alors neutralisés, perdus.

2.7.2.5. Détection et comptage des ions

La détection des ions se fait avec des multiplicateurs d'électrons “Channeltron”. Pour la détection des ions positifs, le cône est polarisé avec un très fort potentiel négatif (~ -3 kV) et l'arrière du tube près du collecteur est relié à la masse. Quand un ion positif quitte l'analyseur de masse il est attiré sur le cône par le potentiel négatif. Quand il heurte la surface, un ou plusieurs électrons secondaires sont éjectés. Le potentiel variant continûment avec la position le long du tube, les électrons secondaires avancent dans le tube vers les régions plus proches de la masse. Ces électrons secondaires vont à leur tour toucher une autre partie de la métallisation et d'autres électrons secondaires plus nombreux sont émis, amplifiant ainsi le signal. Ce processus est répété jusqu'à ce que les électrons secondaires sortent du tube. Le résultat est un “pulse” contenant une centaine d'électrons au niveau du collecteur pour un ion frappant l'entrée du détecteur.

2.8. Etude de la cristallurie

2.8.1. Echantillonnage d’urines

Durant la période allant de Mars à Juin 2011, 199 échantillons de premières urines de réveil ont été prélevés auprès des sujets volontaires des régions dans deux pays différents (Maroua ; située dans l’extrême-Nord - Cameroun et Tadla-Azilal de la région de Beni Mellal – Maroc). 50 sujets étaient lithiasiques et 149 sains. Afin de stabiliser les différents faciès cristallins des espèces chimiques présentes, les échantillons ont été conservés sous une température de +4°C pendant 24 heures avant l’analyse de la cristallurie.

2.8.2. Protocole d’étude de la cristallurie

2.8.2.1. Matériel

Le microscope optique à lumière polarisée model *Olympus BX41* équipé d’oculaires permettant un grossissement x10 et d’objectifs grossissant 20 et 40 fois a été employé pour l’identification des cristalluries.

2.8.2.2. Protocole standard d’analyse de la cristallurie

Le protocole standard d’étude de la cristallurie dont les étapes de l’étude sont décrites dans la plupart des manuels des laboratoires médicaux en pratique quotidien, tout comme

celui présenté par un expert du domaine des lithiases, en l'occurrence le professeur Michel Daudon du "Laboratoire Cristal " de l'hôpital pédiatrique de Necker en France (Daudon M., 1987a ; Daudon M ; 1987b) a été employé dans ce travail.

- Choix du prélèvement : Il est effectué sur les premières urines du réveil, couvrant une longue période du nycthémère et correspondant à une sursaturation souvent importante de l'urine.
- Conservation du prélèvement : Les échantillons ont été conservés entre +4°C et examinés dans les heures suivant le prélèvement afin de stabiliser les phases cristallines et permettre l'obtention d'une meilleure forme.
- Mesure du pH : Il est mesuré avec une précision au dixième d'unité

(Valeur = pH ± 0,1) au moment de la préparation de la lame.

- Préparation de l'échantillon : l'urine est homogénéisée par retournement. Une à deux gouttes est placée sur une cellule de Malassez couverte d'une lamelle pour observation au microscope optique à polarisation.

La comparaison des cristaux observés à ceux présentés en Annexe 2 (Daudon M., Laboratoire Cristal) permet leur d'identifier et de distinguer les différents faciès des cristallins des espèces chimiques de l'urine.

2.9. Dosages chimiques de l'oxalurie et de la calciurie.

Les lithiases oxalo-calciques sont devenues les plus fréquentes de nos jours et connaissent des étiologies variées. L'hypercalciurie et l'hyperoxalurie en sont les principaux facteurs de son développement. Pour mieux comprendre les mécanismes de la formation de cristaux d'oxalates de calcium qui induisent la formation des calculs oxalo-caciques (oxalate de calcium monohydraté ; $CaC_2O_4.H_2O$ et oxalate de calcium dihydraté ; $CaC_2O_4.2H_2O$), les concentrations des ions calcium et oxalates ont été approximativement déterminées dans les urines à la suite de l'étude de la cristallurie par des techniques de dosage volumétriques classiques. Pour des raisons hygiéniques et économiques, les dosages ont été réalisés sur des échantillons d'urines diluées à de l'eau distillée. Les résultats ont été ensuite multipliés par un facteur de dilution.

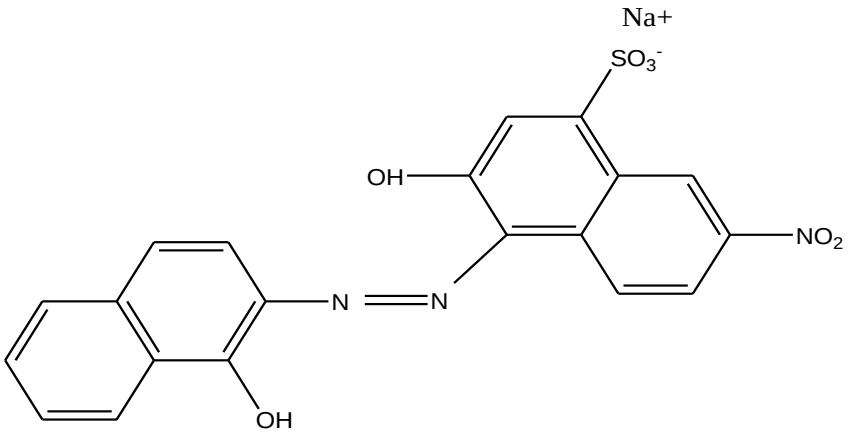
2.9.1. Dosage complexiométrique des ions calcium (Ca^{2+}) par à l'EDTA

- **Matériels et réactifs**

Matériels : béchers (100mL, 200mL), burette de 50mL, éprouvette graduée (10mL, 100mL), fioles jaugées (250mL, 500mL), pipette jaugée de 20mL, agitateur magnétique, barreau aimanté.

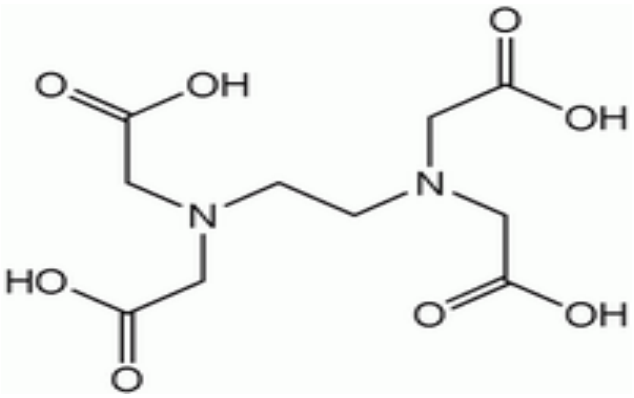
Réactifs :

- Noir d'ériochrome T (N.E.T) :



- Tampon 10,
- Eau distillée
- Sel d'éthylène diamine tétra acétique (E.D.T.A) : poudre blanche, formule statistique : $C_{10}H_4N_2Na_2O_8.2H_2O$, ref. : AC09651000, pureté : 99,4-100,6%,
  MM. : 372,24

Formule semi-développée de l'EDTA :



- **Principe**

En milieu assez basique (pH = 10), l'EDTA, que l'on notera plus simplement YH_4, réagit selon l'équation :

$YH_4 + 4HO^- \Leftrightarrow 4H_2O + 4Y^{4-}$, l'ion Y^{4-} est incolore. (1)

En présence de Ca^{2+} ou Mg^{2+} (X^{2+}), on obtient les complexes $[CaY]^{2-}$ ou $[MgY]^{2-}$ ($[XY]^{2-}$) très stables et ***incolores***, selon l'équation :

$X^{2+} + Y^{4-} \Leftrightarrow [XY]^{2-}$, l'ion complexe $[XY]^{2-}$ est ***incolore.*** (2)

D'autre part, le noir d'ériochrome **T** (N.E.T.) est ***bleu*** à pH = 10 ; on le notera In^{3-}. En présence d'ions Ca^{2+} ou Mg^{2+}, il forme un autre complexe ***rose*** $[CaIn]^-$ ou $[MgIn]^-$ ($[XIn]^-$) moins stable que les précédents, selon l'équation :

$$X^{2+} + In^{3-} \Leftrightarrow [XIn]^- \quad (3)$$

bleu ***rose***

Par conséquent, à pH = 10, dans un mélange composé de très peu de NET + Ca^{2+} et / ou Mg^{2+}, il se forme un complexe $[XIn]^-$ ***rose***, on ajoute de l'EDTA qui forme un complexe plus stable et ***incolore*** $[XY]^{2-}$ avec X^{2+}.

A l'équivalence, X^{2+} a disparu, alors l'excès d'EDTA détruit le complexe $[XIn]^-$ ***rose*** peu stable**,** ce qui régénère In^{3-} qui est ***bleu*** marquant la fin du dosage suivant l'équation de la réaction 4 : $[CaIn]^- + Y^{4-} \rightarrow [CaY]^{2-} + In^{3-}$ (4)

rose ***bleu***

Connaissant la concentration et le volume d'E.D.T.A. utilisé, l'équation (4) permet de calculer la concentration en ions calcium et / ou magnésium dans l'urine diluée.

- **Protocole expérimental**

Le montage schématisé sur la figure 29 représente le dispositif expérimental utilisé pour le dosage des ions calcium (Ca^{2+}) dans les urines diluées.

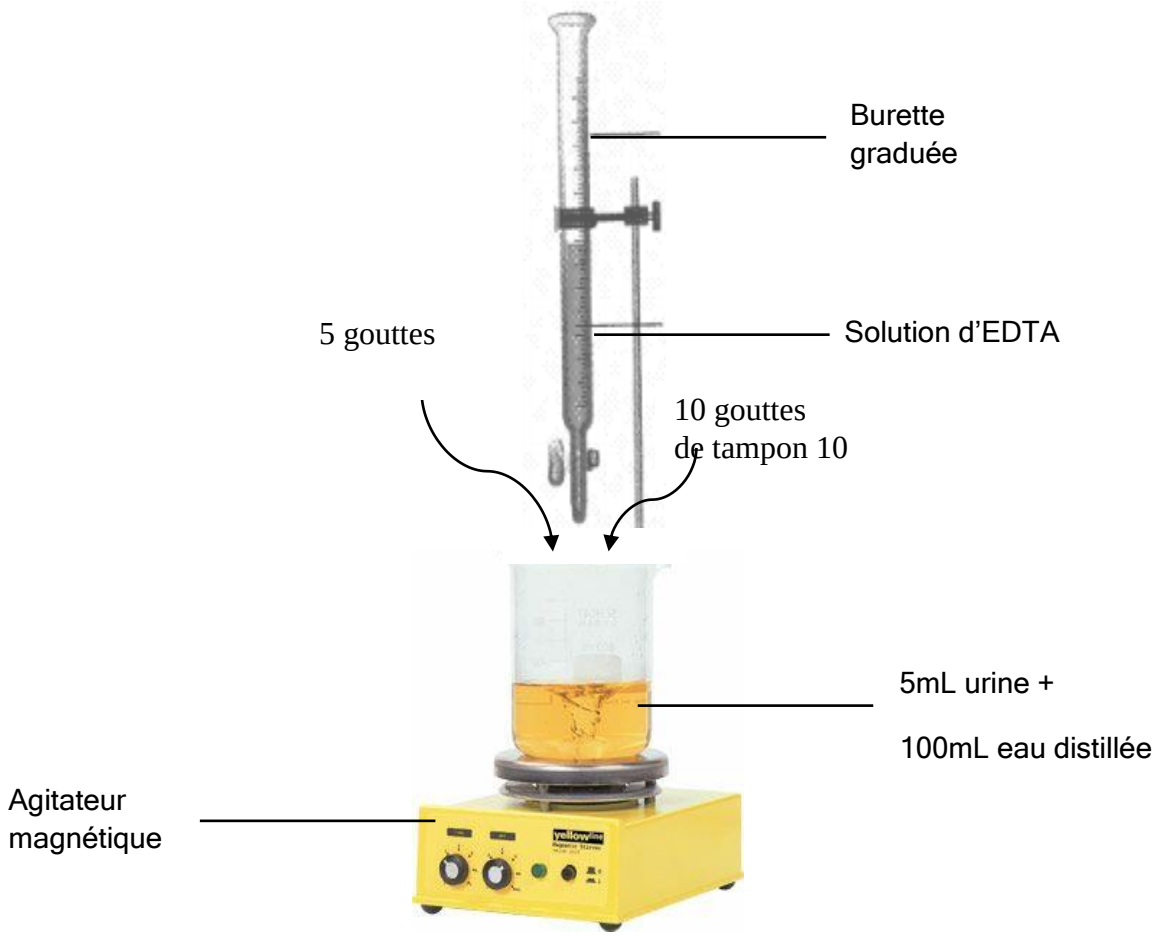


Figure 29 : Mode opératoire de dosage des ions calcium par une solution d'EDTA

2.9.2. Dosage des oxalates par oxydoréduction au permanganate de potassium

- **Matériels et réactifs**
  - **Matériels** :

béchers (100mL, 200mL), burette de 50mL, éprouvette graduée (10mL, 100mL), fioles jaugées (250mL, 500mL), pipette jaugée de 20mL, 10mL, 5mL, agitateur magnétique, barreau aimanté, plaque chauffante, thermomètre.

- **Réactifs**

- Sel de permanganate de potassium : $KMnO_4$, MM. 158,04, pureté 99%, réf. PO03310500,
- Solution d'acide sulfurique : réf. A47158521, MM. 98,08, pureté 95%, masse volumique 1,8302g/cm^3,
- eau distillée.

- **Principe**

L'ion permanganate (MnO_4^-) rouge violacé a des propriétés oxydantes car en milieux acide, il capte cinq électrons arrachés de l'ion oxalate ($C_2O_4^{2-}$) incolore qui a des propriétés réductrices. Au cours de cette réaction redox, l'ion permanganate MnO_4^- est transformé en Mn^{2+} (incolore) par gain de cinq électrons (équation 6) et l'ion oxalate $C_2O_4^{2-}$ est transformé en dioxyde de carbone CO_2 par perte de deux électrons (équation 5). Le point d'équivalence de la réaction est marqué par la persistance de la couleur rose du permanganate traduite par l'équation-bilan 7.

½ équation d'oxydation : $5x(C_2O_4^{2-} \Leftrightarrow 2CO_2 + 2e^-)$ (5)

½ équation de réduction : $2x(MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- \Leftrightarrow Mn^{2+} + 4H_2O)$ (6)

Bilan : $2MnO_4^- + 5C_2O_4^{2-} + 16H^+ \Leftrightarrow 10CO_2 + 2Mn^{2+} + 8H_2O$ (7)

Si C_o et V_o représentent respectivement les concentrations molaires et le volume de l'oxydant (MnO_4^-) et C_r et V_r les concentrations et volume du réducteur ($C_2O_4^{2-}$), nous pouvons à partir de l'équation-bilan (7) écrire :

$2C_rV_r = 5C_oV_o$ soit, $C_r = \dfrac{5C_oV_o}{2V_r}$.

- **Protocole expérimental**

Le dispositif expérimental dont le montage est schématisé sur la figure 30 nous a permis de déterminer le point d'équivalence du dosage redox des ions oxalates ($C_2O_4^{2-}$) dans les échantillons d'urines préalablement diluées à l'eau distillée.

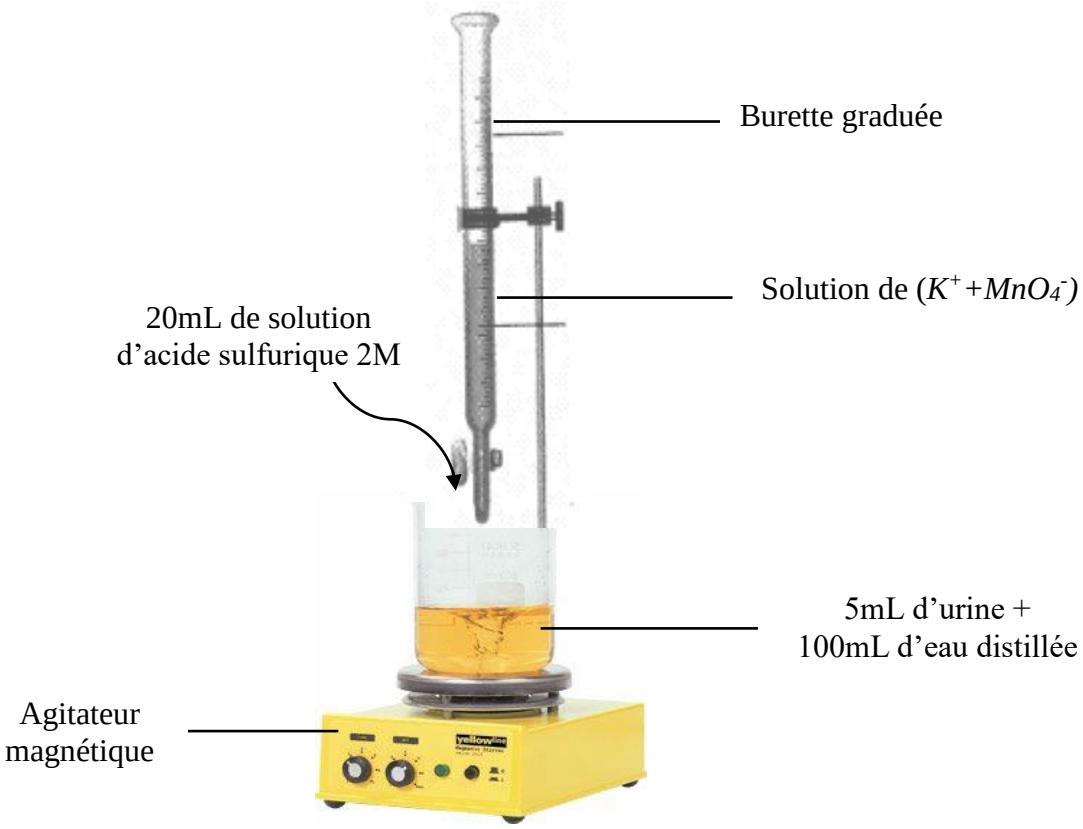


Figure 30: Mode opératoire de dosage des ions oxalates par une solution permanganate de potassium

Conditions particulières **:** D'une part, l'ion permanganate (MnO_4^-) est instable, en solution il se transforme en dioxyde de manganèse MnO_2, d'où les solutions utilisées pour le dosage sont des solutions fraiches (préparées instantanément). D'autre part, la cinétique du début de la réaction entre l'ion oxalate et l'ion permanganate est lente. De ce fait, le milieu réactionnel est ***chauffé entre 60 et 70°C avant l'ajout du permanganate de potassium*** pour faciliter la formation des ions Mn^{2+}, catalyseur, et ainsi augmenter la cinétique de la réaction.

Chapitre 3

Résultats Expérimentaux Et Interprétations

Introduction

Au terme des analyses des calculs par les différentes techniques décrites au chapitre précédent, les informations sur la morphologie et la composition chimique des échantillons nous ont permis de dégager un certain nombre de caractéristiques liées à l'épidémiologie et à l'étiopathogénie des lithiases urinaires explorées dans le cadre de nos travaux. Ce chapitre dédié aux résultats expérimentaux et leurs interprétations, présente les données épidémiologiques et étiologiques de la lithiase urinaire des échantillons de calculs des séries présentées au chapitre 2 et explorées par une analyse morpho-constitutionnelle par microscopie (optique et électronique) et par spectrophotométrie moyen infrarouge à transformée de Fourier. Les résultats de l'analyse multi-élémentaire par ICP-MS des dix échantillons choisis donnant les teneurs de certains métaux dont les effets inhibiteurs ou promoteur de la lithogenèse sont également présentés dans cette partie. L'influence des calciuries et oxaluries apparentes sur la cristallisation oxalo-calcique aussi bien chez les sujets lithiasiques que non lithiasiques constituera également un paragraphe non négligeable de ce chapitre.

3.1. Localisation et méthode d'extraction des calculs urinaires

Sur les 137 échantillons de calculs de Tadla-Azilal, 133 sont localisés dans les reins (97,08%) et 4 dans la vessie (2,92%). La plus grande majorité des calculs de la série de yagoua-Cameroun avait une localisation anatomique vésicale et extraits par chirurgie. Quant à la série de Tadla-Azilal, 84 calculs sont extraits par chirurgie (61,31%), 30 par lithotripsie extracorporelle d'ondes de choc (LEC) (21,9%) et 23 par expulsion spontanée (16,79%) (Voire diagramme circulaire de la figure 31).

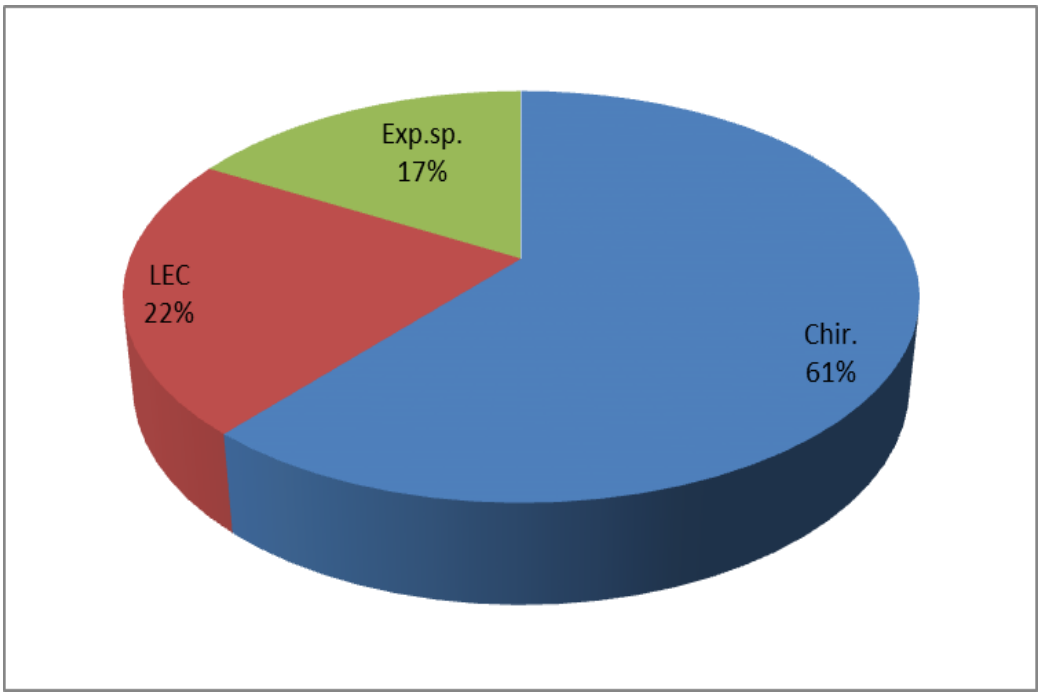


Figure 31: Diagramme circulaire des méthodes d'extraction des calculs urinaires

3.2. Données épidémiologiques

Les patients lithiasiques sont généralement soumis à un régime alimentaire particulier pour une prophylaxie aussi bien curative comme préventive de la récidive. Parmi ceux de la série de Tadla-Azilal, 18 patients étaientt soumis à un régime alimentaire non-calcique, 5 non carnés, 3 non sucrés, 1 non lipidique et 1 non salé. 27 patients avaient d'antécédents familiaux. Une prédominance masculine a été observée ; soit 76 hommes (56,2%) et 61 femmes (43,8%) pour un rapport homme/femme (H/F) d'environ 1,25. Le pic d'âge situait entre 40 et 50 ans pour une moyenne d'environ 46 ans pour les deux sexes. Une prédominance masculine est également notée dans la série de Yagoua, toutefois, les âges et d'autres informations n'ont pu être relevés lors de la collecte des échantillons cette série.

3.3.1. Examen optique par la loupe binoculaire et typage morphologique

La première phase de l'analyse est la détermination du type morphologique du calcul selon la classification de Michel Daudon et ses collaborateurs (Daudon M. *et al*, 1999). Ce paragraphe rend compte des résultats de l'observation des dix échantillons sous la loupe binoculaire précédemment présentés au chapitre 2. Un examen supplémentaire est réalisé sur

la section, ce qui a permis de déterminer à la fois, la structure interne et de rechercher le point de départ de la cristallisation (noyau du calcul), véritable origine étiologique de la lithiase en question.

Echantillon N°1 : calcul mixte constitué d'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) et d'acide urique dihydraté, de type morphologique de l'association **(Ia + IIIb).** Orientations étiologiques : hyperuricurie intermittente d'urines à pH acide + hyperoxalurie intermittente.

Echantillon N°2 : calcul pur d'oxalate de calcium monohydraté, absence d'ombilication et de plaque de Randal, de type **Ib** dont la principale cause serait l'hyperoxalurie avec stase urologique.

Echantillon N°3 : calcul d'acide urique anhydre, type morphologique **IIIa**. Les orientations étiologiques sont l'hyperuricurie intermittente avec acidification urinaire.

Echantillon 4 : calcul de whewellite, type **Ib ;** orientations étiologiques : hyperoxalurie intermittente avec stase urologique.

Echantillon 5 : calcul mixte d'acide urique et de phosphates (apatites), formé par nucléation à partir d'un noyau d'acide urique, type **IVb**. Orientation étiologique : Hyperuricurie + urines alcalines + infection urinaire avec alcalinisation, hypercalciurie.

Echantillon 6 : calcul mixte de phosphates calciques et d'oxalate de calcium monohydraté, majoritaire en carbapatite, type **Ia+IVa**, orientations étiologiques : maladie de Cacchi-Ricci, hyperoxalurie intermittente + infection urinaire.

Echantillon 7 : calcul mixte de phosphates calciques et ammoniaco-magnésien, type **IVc**, orientations étiologiques : Infection urinaire à germes uréasiques et alcalinisation urinaire.

Echantillon 8 : calcul d'oxalate de calcium monohydraté (whewellite), type **Ib,** orientation étiologique : Hyperoxalurie avec stase.

Echantillon 9 : calcul mixte de phosphates calciques et ammoniacomagnésien, majoritaire en carbapatite, type **IVc**, orientations étiologiques : Infection urinaire à germes uréasiques.

Echantillon 10 : calcul d'oxalates de calcium monohydraté et dihydraté, type **IIb,** étiologies : Hypercalciurie + hyperoxalurie modérée ou intermittente, hypercalciurie ancienne+ conversion cristalline (Daudon M. *et al*, 1999).

Cette étape de typage morphologique constitue une des étapes informatives sur la constitution du calcul. Pour certaines espèces chimiques très fréquentes telles que les oxalates de calcium et les acides uriques, l'analyse morphologique donne la composition chimique et cristalline à 75% (Daudon M., 1978). Elle est complétée dans un premier temps par une analyse par le microscope optique à polarisation ou électronique à balayage, puis par spectrophotométrie moyen infrarouge à transformée de Fourier.

3.3.2. Analyse constitutionnelle par le microscope optique à lumière polarisée (MOLP)

Bien qu'employé plus pour l'étude des cristalluries, l'expérimentation du microscope optique à lumière polarisée (MOLP) dans le but d'identifier les constituants des calculs urinaires nous permet d'obtenir des résultats assez concluants. Les cristaux de whewellite, weddellite, struvite, brushite et acide urique anhydre sont reconnus par comparaison à ceux observés dans les cristalluries. Les figures 32 à 41 représentent les micrographes des cristaux observés au MOLP suivant le protocole décrit au chapitre 2.

Sur la figure 32, on peut reconnaître les cristaux oviformes et quelques autres cristaux prismatiques d'oxalate de calcium monohydraté, fortement polarisants. Le gros cristal de forme losangique polarisant est celui d'acide urique dihydraté. Ces observations permettent de déduire la composition du calcul : whewellite et acide urique dihydraté, correspondant au type morphologique Ia + IIIb (Daudon M. *et al*, 2003).

Les microcristaux constituants l'échantillon 2 sont représentés par les images de la figure 33. On peut reconnaitre, facilement, les microcristaux cylindriques polarisants d'oxalate de calcium monohydraté. Il s'agit donc d'un calcul de type Ib, presque pur en whewellite.

La figure 34 représente l'image photographiée des microcristaux par MOLP de l'échantillon 3. Les microcristaux prismatiques fortement polarisants sont assignés à ceux de la whewellite, tandis que le gros cristal en forme de pentagone est celui de l'acide urique anhydre mal cristallisé (Daudon M., 1987). La composition chimique de ce calcul correspond à une association d'oxalate de calcium monohydraté et d'acide urique anhydre, majoritaire en oxalate de calcium, de type morphologique IIIa (Daudon M. *et al*, 2003).

La figure 35 fait ressortir l'image d'un gros cristal octaédrique d'oxalate de calcium dihydraté (weddellite) se transformant en forme monohydratée (whewellite) ; on parle de weddellite « fantôme ».

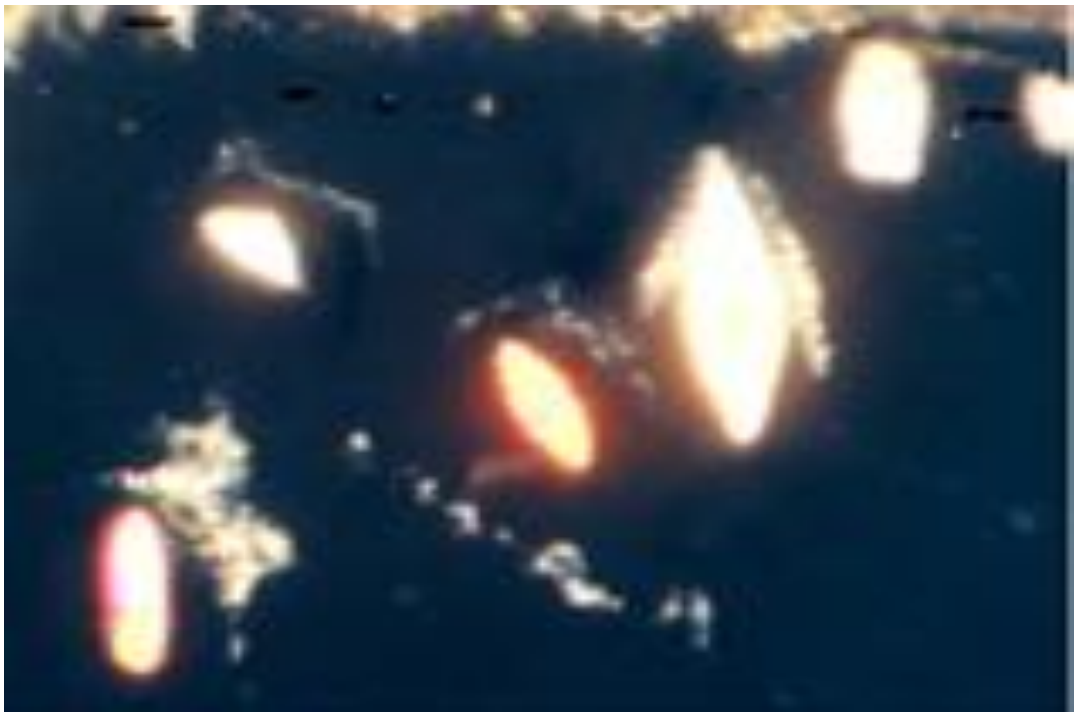


Figure 32: (échantillon 1) Cristaux polarisants d'oxalate de calcium monohydraté (oviformes) et d'acide urique dihydraté (losange) vus sous grossissement 40x

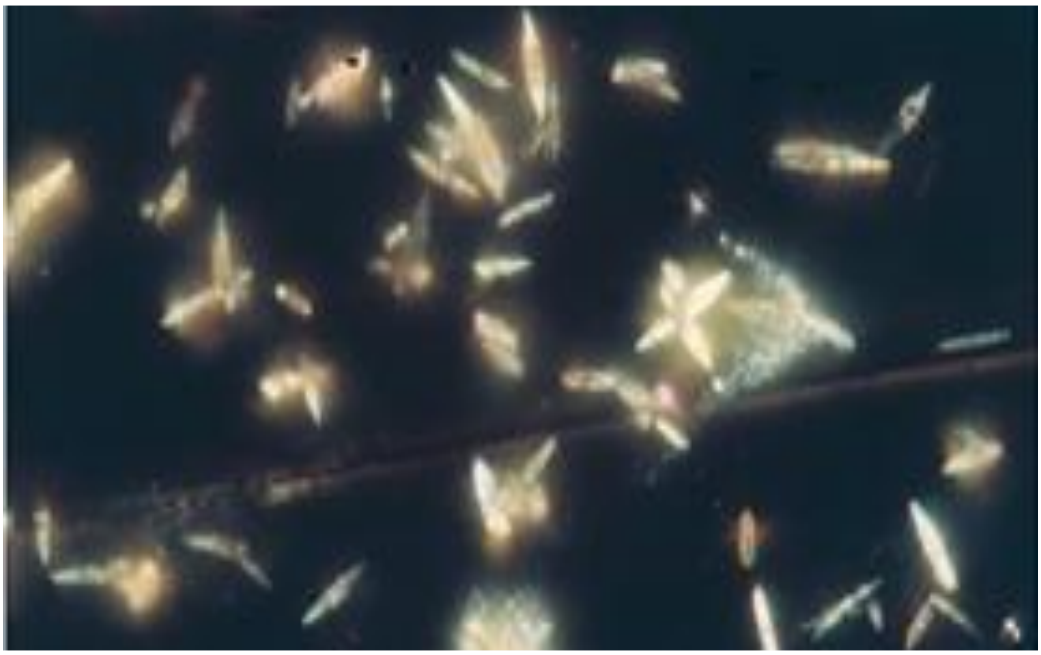


Figure 33: (échantillon 2) Cristaux cylindriques polarisants d'oxalate de calcium monohydraté, sous grossissement de l'objectif à 40x

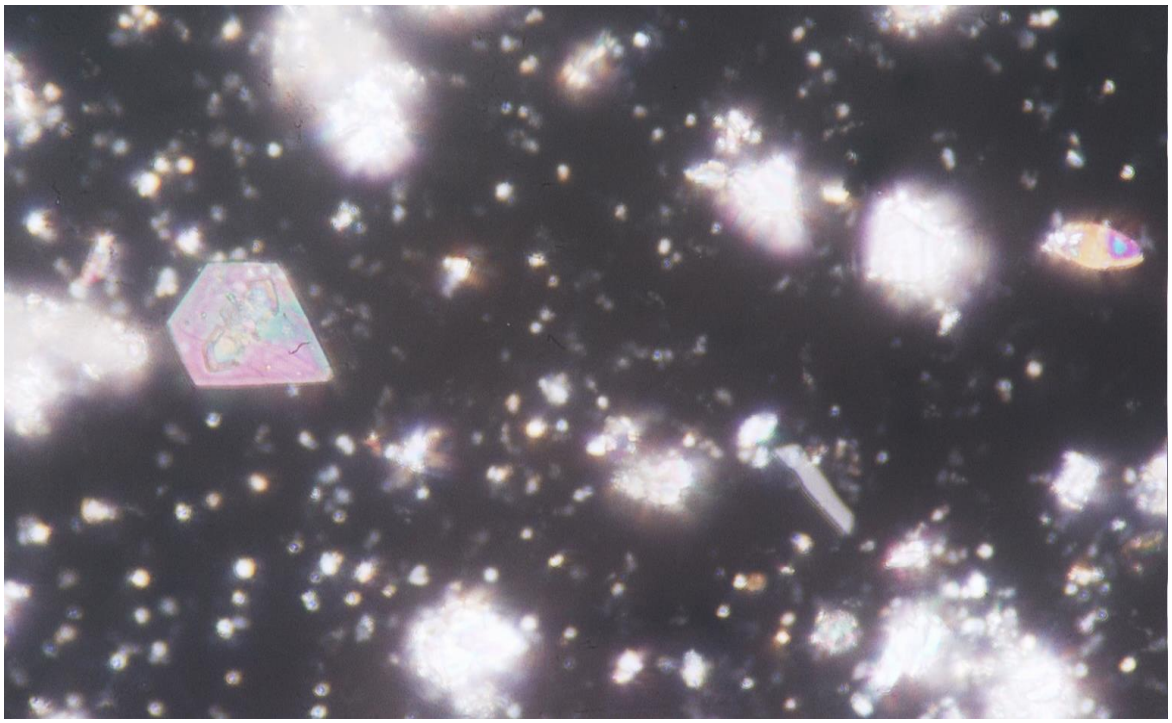


Figure 34: (échantillon 3) Microcristaux prismatiques fortement polarisants de whewellite, gros cristal d'acide urique anhydre (en pentagone)

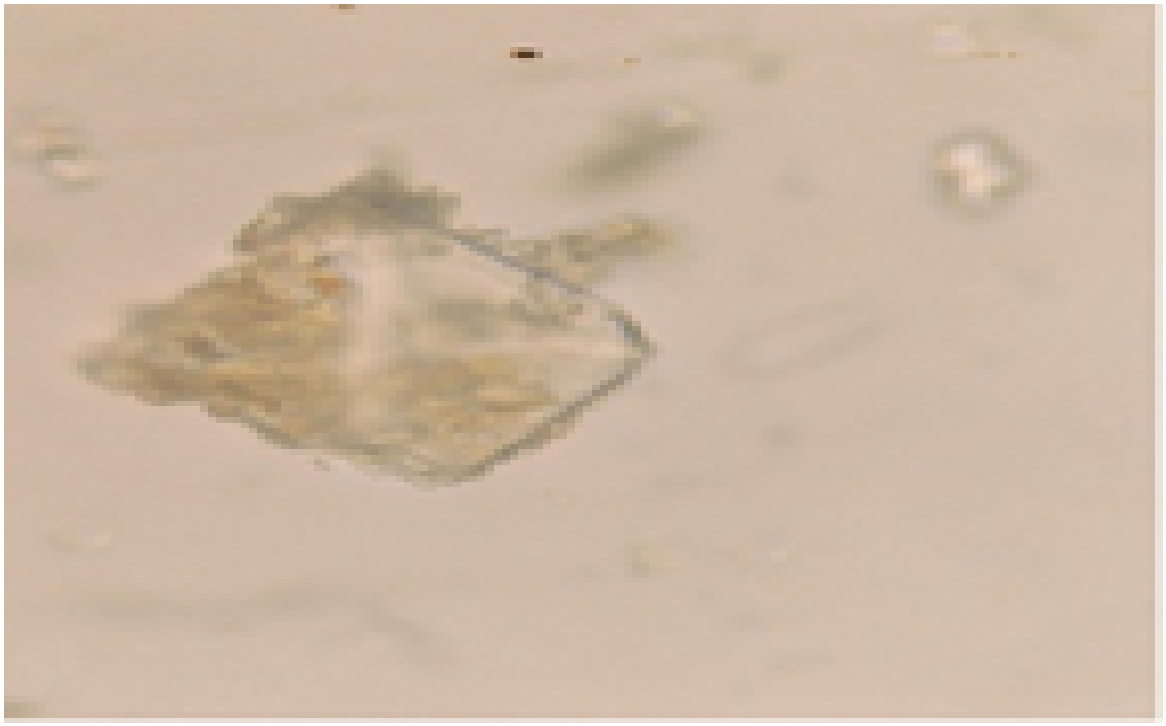


Figure 35: (échantillon 4) gros cristal octaédrique mal formé d'oxalate de calcium dihydraté

Sur la figure 36 de l'échantillon 5, on reconnait le cristal, en forme de cercueil, de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (Daudon M., 1989) autour duquel se trouvent de minuscules cristaux amorphes, plus ou moins polarisants assignables à ceux de la carbapatite. Il s'agit donc d'un calcul mixte de carbapatite et de struvite.

Sur la figure 37, nous avons une image semblable à celle de la figure 36, caractérisant la forme dite « cercueil » de la struvite. Cette image correspond à l'échantillon 9 observé par le MOLP.

La figure 38 de l'échantillon 10 révèle l'image d'un cristal octaédrique d'oxalate de calcium dihydraté.

Les images correspondant aux cristaux des échantillons 6, 7 et 8 n'ont pas permis de classification des calculs.

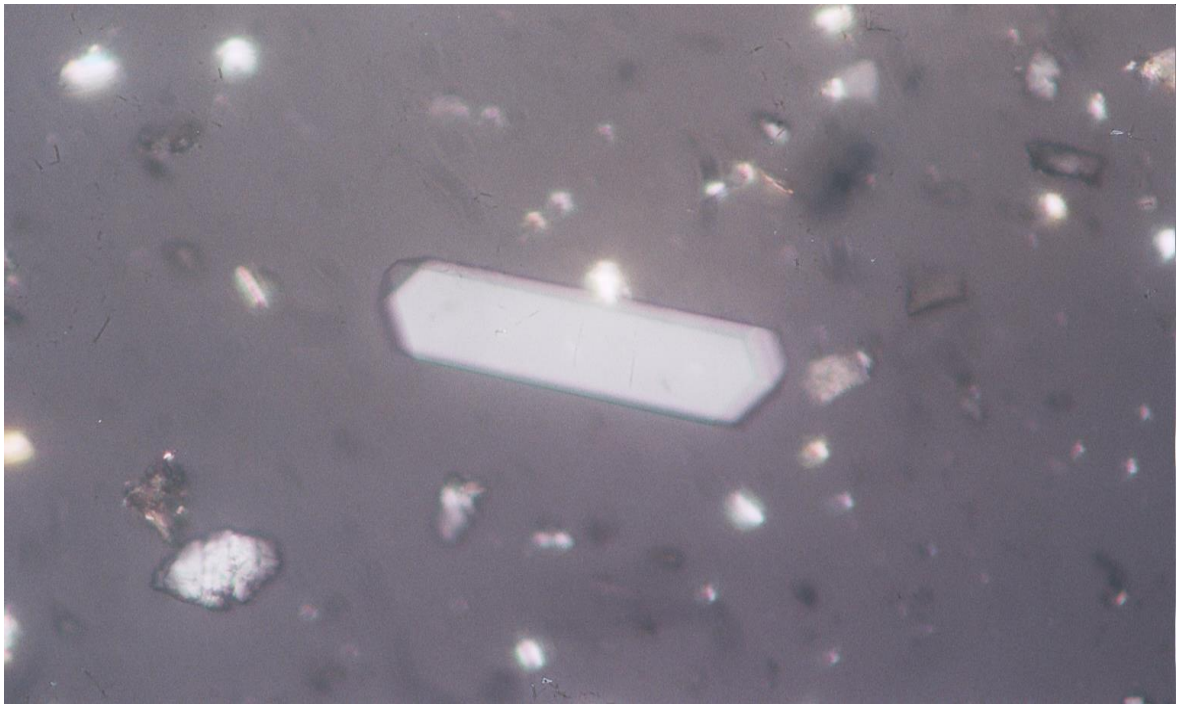


Figure 36: (échantillon 5) Gros cristal orthorhombique de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté au milieu de microcristaux amorphe plus ou moins polarisants de carbapatite

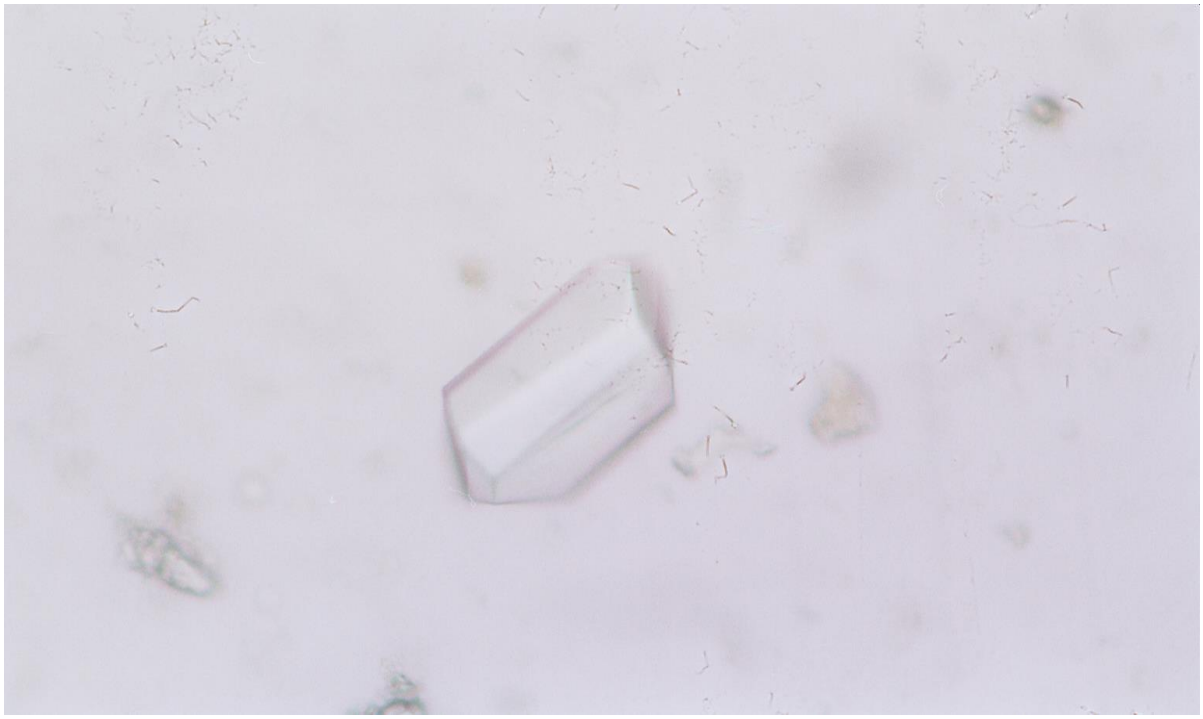


Figure 37: (échantillon 9) Image d'un microcristal orthorhombique de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (struvite) sous grossissement de l'objectif

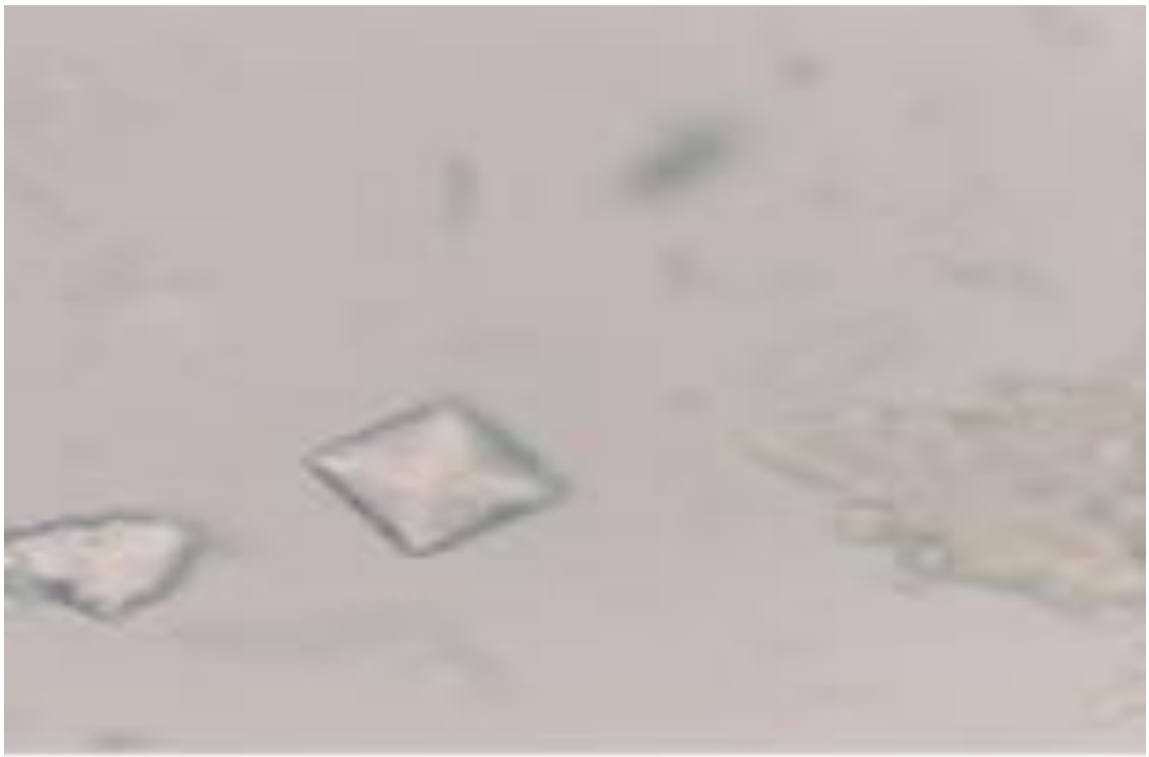


Figure 38: (échantillon 10) Microcristal octaédrique d'oxalate de calcium dihydraté (weddellite)

3.3.3. Analyse constitutionnelle par le microscope électronique à balayage (MEB)

Les images tridimensionnelles photographiées correspondant aux analyses par le MEB sont représentées sur les figures 39 à 48.

La comparaison des images la figure 39 à celles obtenues par Juana Bellanato et al (Bellanato *et al*, 2009) permet d'identifier les cristallites d'acide urique dihydraté en forme de polygone. Ces observations sont en accord avec les données du typage morphologique de l'échantillon 1 par la loupe binoculaire présumaient un calcul de type Ia+IIIb constitué d'acide urique et de whewellite. Les cristaux d'acide urique dihydraté et de whewellite ont été également observés lors de l'analyse au microscope optique à polarisation.

Sur la figue 40, le grand nombre de cristallites organisés en forme des bâtonnets, correspondent aux oxalates de calcium monohydraté (whewellite). Dans les travaux de thèse dédiés à l'analyse des calculs urinaires oxalocalciques par le MEB, les cristaux de whewellite observés par Alaya confirment les formes obtenues dans le présent travail (Ayala E., 2004). L'échantillon est classé de type Ic, représentant l'oxalate de calcium monohydraté pur et les mêmes cristaux sont identifiés par le MOLP.

L'échantillon 3 dont le micrographe des cristaux vus au MEB sont représentés sur la figure 41 s'avère majoritaire en whewellite. Les observations de sa morphologie font état d'une présence d'acide urique dihydraté, quant à l'analyse au MOLP, nous avons observé les cristaux d'acide urique anhydre.

Les cristallites de la figure 42 sont ceux des oxalates de calcium monohydraté. Lors de l'examen microscopique au MOLP, les cristaux prismatiques de whewellite ont été également observés.

Les traces en forme de fissures observées sur les micrographes de la figure 43 sont décrits par les travaux de Bernat Isern Amengual comme les cristaux de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (struvite) (Bernat Isern Amengual, 2007). Les fissures observées sont souvent sous forme de la lettre « Y » plus ou moins déformée. Les granulations plus ou moins amorphes entourant ces derniers sont ceux de la carbapatite. Donc l'analyse au MEB montre que l'échantillon 5 est constitué de struvite de la carbapatite, confirmant le type morphologie IVa+IVc.

Nous avons fait une comparaison de l'image de la figure 44 à celles des micrographes par le MEB du travail de Xavier Carpentier et ses collaborateurs (Carpentier *et al.*, 2009) sur la relation entre le taux de carbonatation de le carbapatite et les caractéristiques morphologiques des calculs de phosphates calciques et de Xiao-Liang Pan et al (Carpantier *et al.*, 2009 ; Xiao-Liang Pan, 2010). On reconnait les cristallites de carbapatite par des boules sphériques. Le type morphologique IVa est assigné à l'échantillon 6 ; à l'étape des observations sous la loupe binoculaire. Ces observations sont en accord avec les caractéristiques des cristaux amorphes observés par le microscope optique à polarisation.

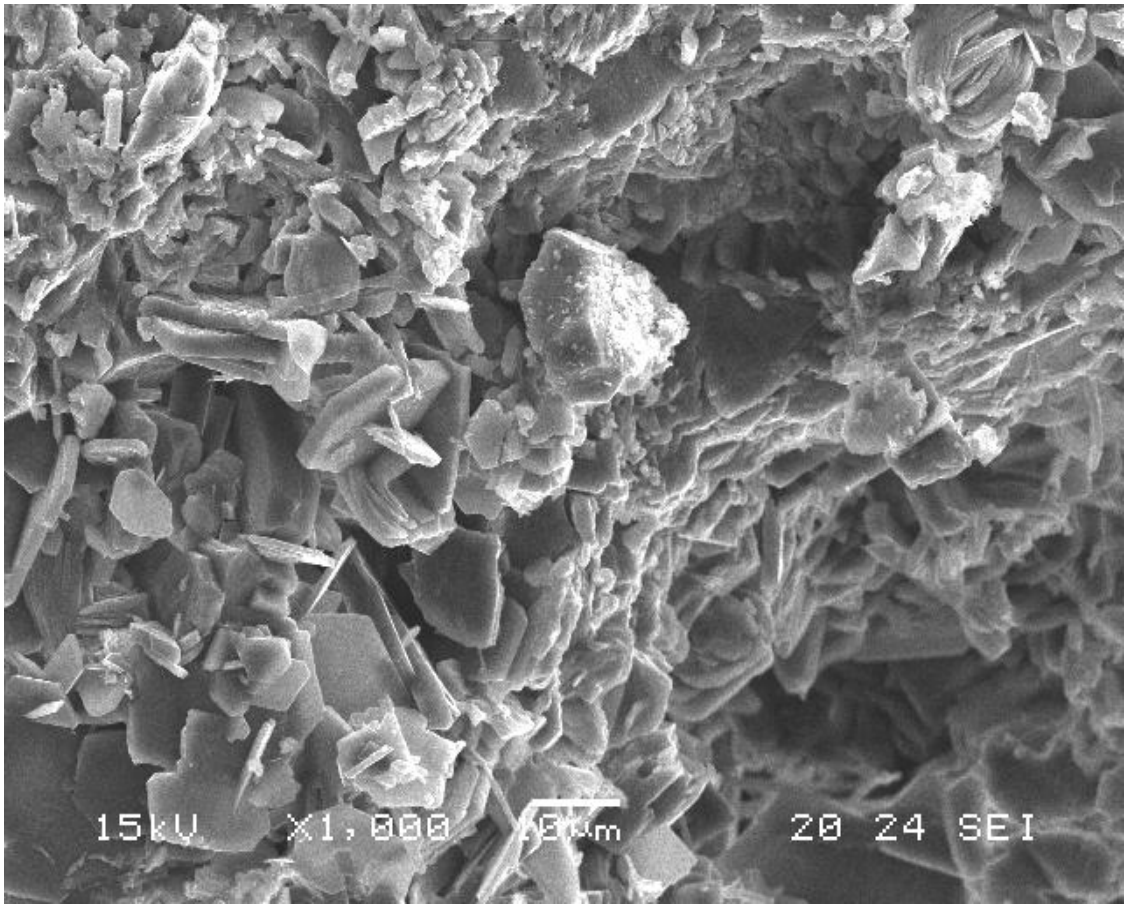


Figure 39: (échantillon 1) Micrographes par le MEB des cristaux d'acide urique anhydre

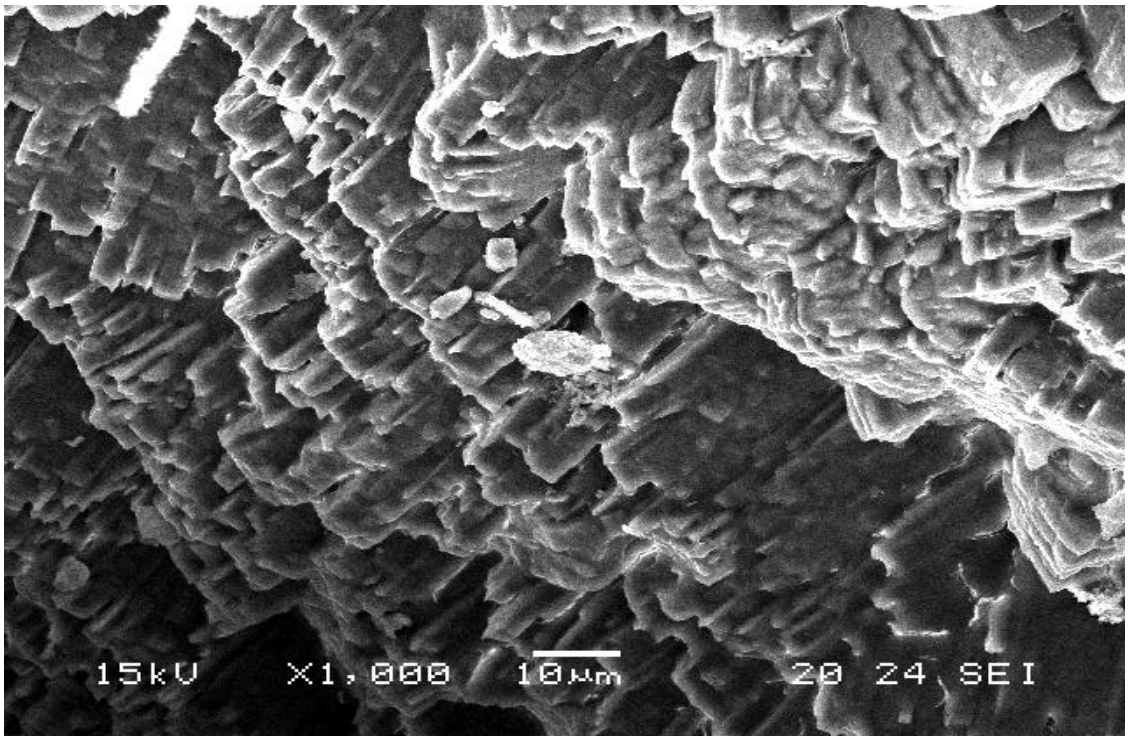


Figure 40: (échantillon 2) Micrographe du MEB des cristaux de whewellite

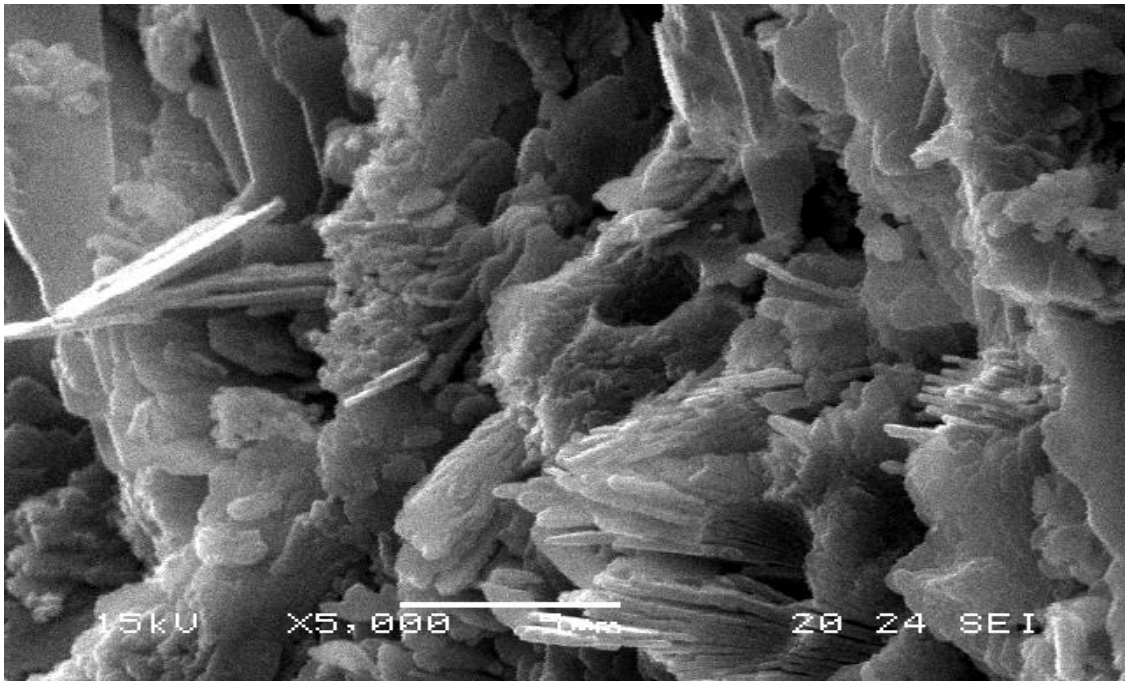


Figure 41: (échantillon 3) Micrographe par le MEB des cristaux d'oxalate de calcium

Figure 42: (échantillon 4) Micrographe par le MEB des cristaux de whewellite

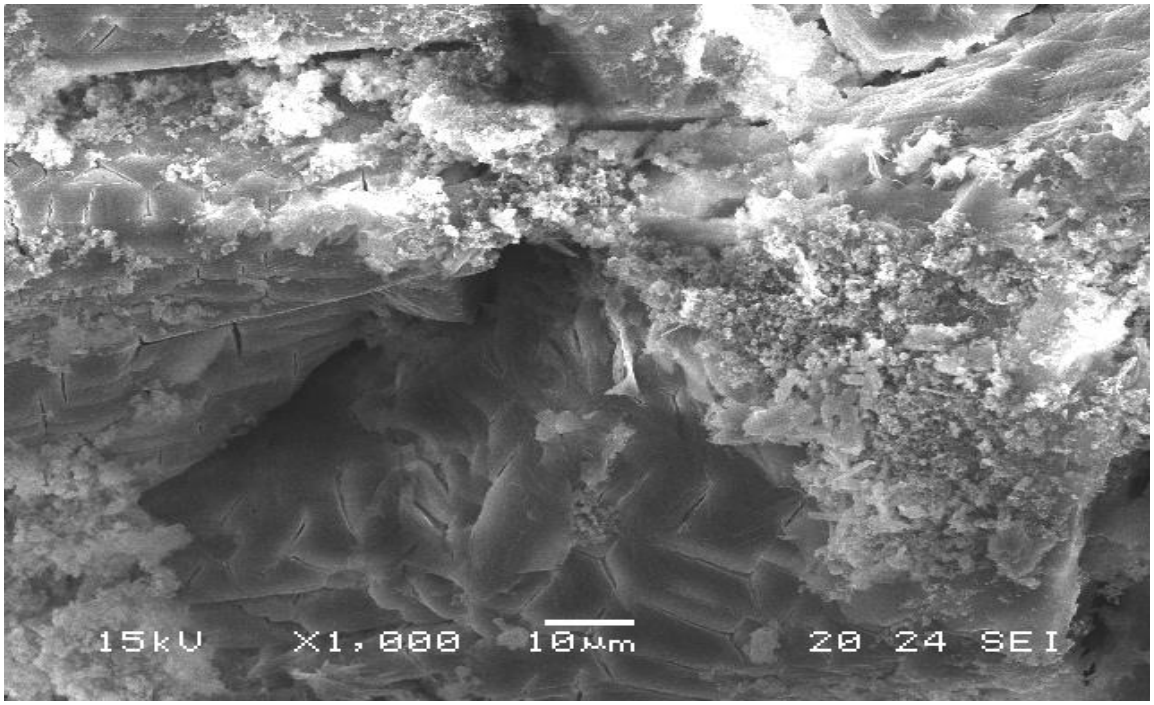


Figure 43: (échantillon 5) Micrographe par le MEB Image des cristaux de struvite et de carbapatite

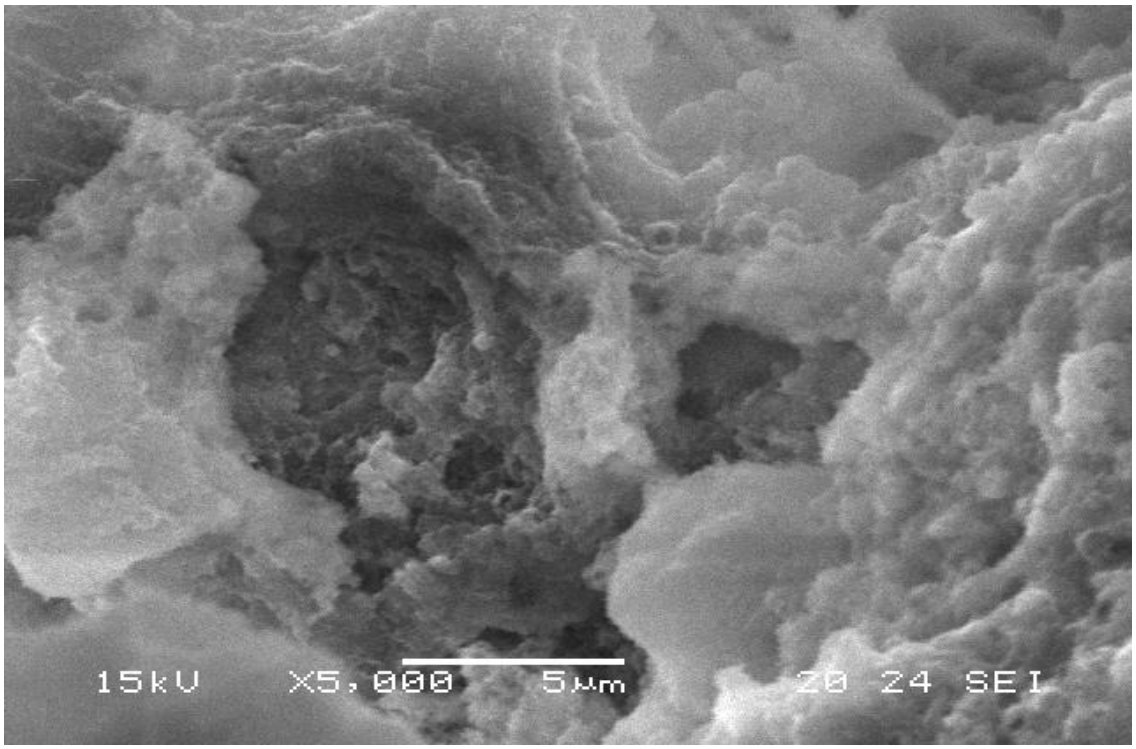


Figure 44: (échantillon 6) Micrographe par le MEB des cristaux de carbapatite

Le micrographe d'aspect en fissure dit en forme de "Y" de la figure 45 montre qu'il s'agit des cristaux de struvite (Bernat Isern Amengual ; 2007). Les petites granulations parsemant les cristaux de struvite sont ceux de la carbapatite. Ces observations sont en accord avec le type morphologique IVa+IVc.

Sur la figure 46, on peut encore reconnaitre les cristallites de whewellite, comparativement à ceux décrits sur les figures 40 et 42.

Les cristaux en boules sphériques de carbapatites sont aisément reconnus sur le micrographe de la figure 47 (échantillon 9) comparativement à ceux décrits par Carpantier et al (Carpantier *et al*, 2009) et les cristaux radiaux de bruschite. Ces données des observations au MEB montrent que l'échantillon 9 est un calcul constitué de carbapatite et de la struvite, confirmant le type morphologique IVa+IVc.

Les images du MEB de la figure 48 montrent la présence des cristallites de whewellite et d'un autre type de phosphate mal défini. Le typage morphologique de cet échantillon 10 est de type IIb, caractéristique d'un calcul d'oxalates de calcium constitué de la whewellite et de la weddellite.

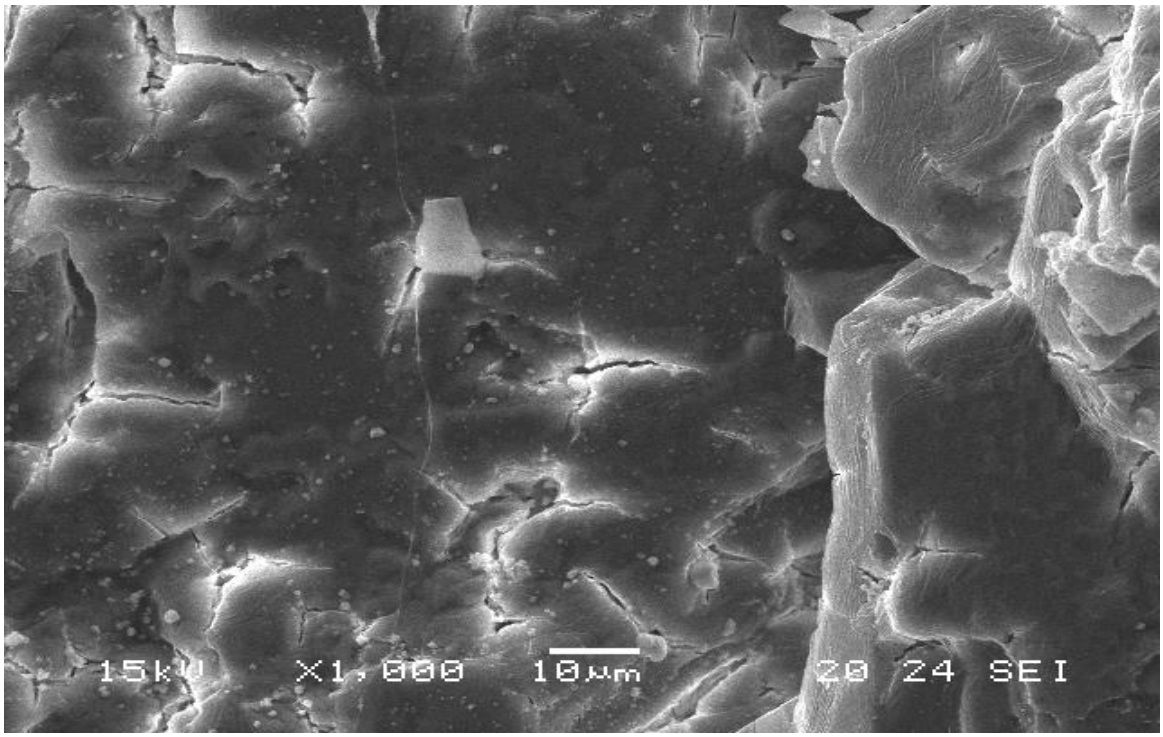


Figure 45: (échantillon 7) Micrographe par le MEB des cristaux de struvite et de carbapatite

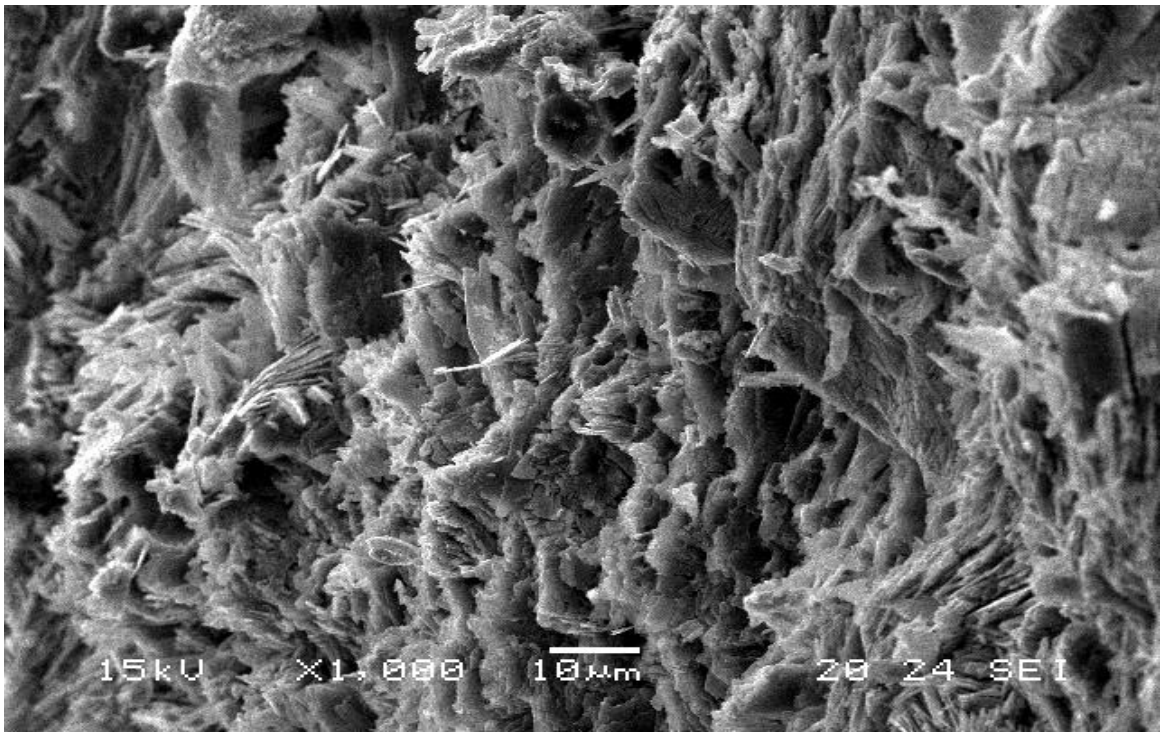


Figure 46: (échantillon 8) Micrographe par le MEB des cristaux de whewellite

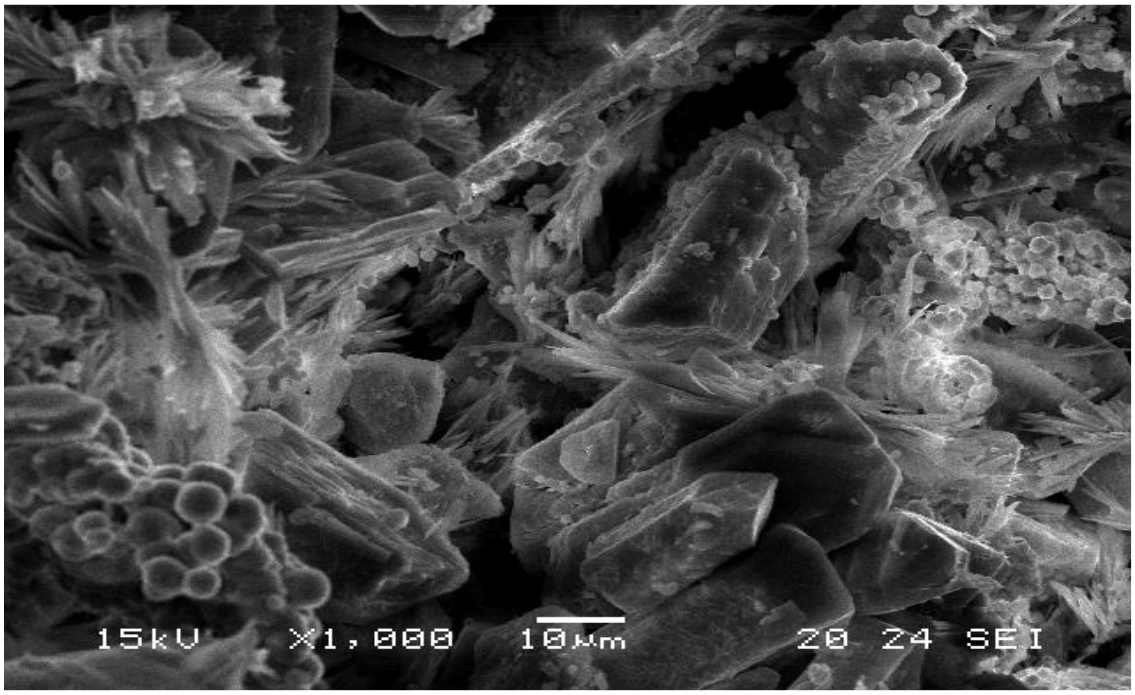


Figure 47: (échantillon 9) Micrographe par le MEB des cristaux de carbapatite, Brushite et de struvite

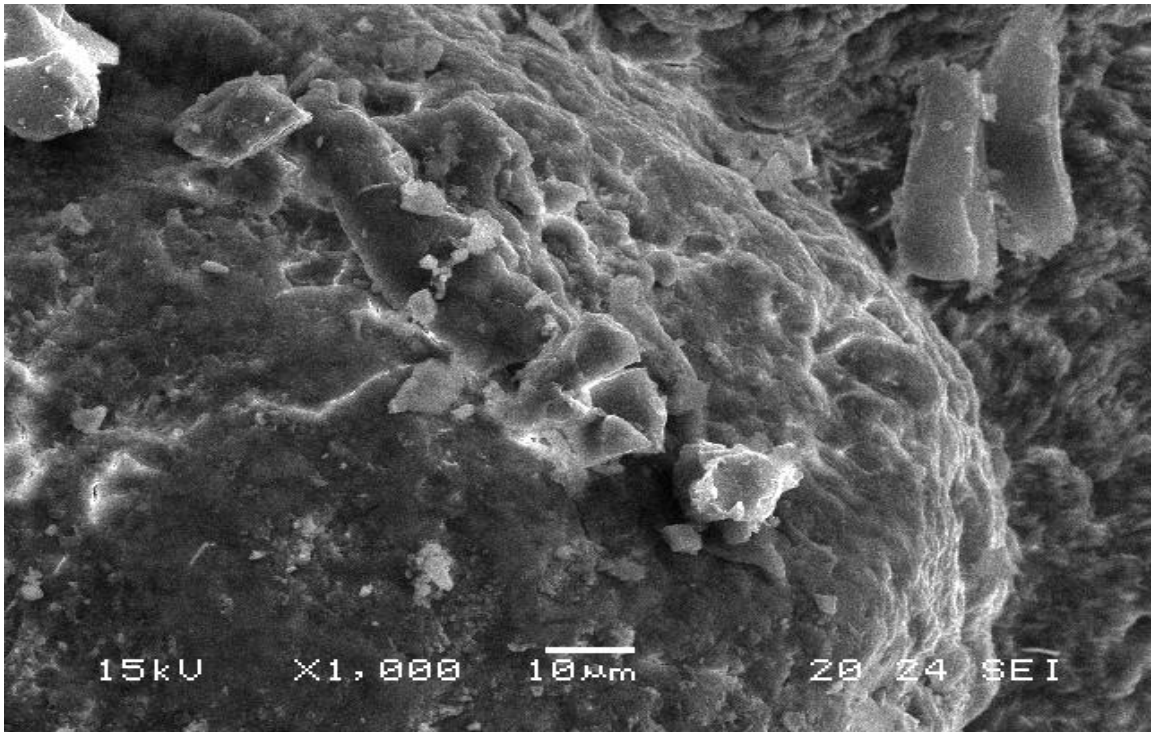


Figure 48: (échantillon 10) Micrographe par le MEB des cristaux de whewellite

3.3.4. Analyse constitutionnelle par spectrophotométrie moyen infrarouge à transformée de Fourier et dépouillement des spectres.

L'analyse par spectrophotométrie IRTF permet de distinguer les groupes fonctionnels des constituants les plus courants dans les calculs urinaires grâce au dépouillement des spectres obtenus. Après observation des échantillons par les différents microscopes (MOLP et MEB), des prélèvements des zones du calcul présentant une particularité structurale sont pulvérisés dans du bromure de potassium (KBr) et les pastilles formées sont analysées par le spectrophotomètre IRTF. Les différents profils spectraux obtenus sont présentés sur les figures 49 à 58.

Le spectre infrarouge de la figure 49 est celui d'un calcul mixte d'acide urique anhydre et d'oxalate de calcium monohydraté, majoritaire en acide urique dont le pic majoritaire se situe à 1669 cm^{-1}. Ce pic principal correspond au groupe lactame de la molécule. Le massif dont le sommet se situe à 3018 cm^{-1} est celui du groupe lactime. Les bandes comprises entre 1470 cm^{-1} et 1300 cm^{-1} d'une part, et entre 780 cm^{-1} et 600 cm^{-1} d'autre part mettent en évidence la présence du cycle purique de l'acide urique. La bande d'absorption à 1315 cm^{-1} correspond à la vibration de valence asymétrique (v_3) de groupe O-C-O du carboxylate des oxalates de calcium (Mohamed Ali *et al*, 2007 ; Laziri *et al*, 2007). Le pic d'absorption à 781 cm^{-1} correspond à la déformation hors du plan de la molécule d'eau de la forme mohydratée des oxalates (Xizhao Sun *et al*, 2011 ; Daudon M., 1978).

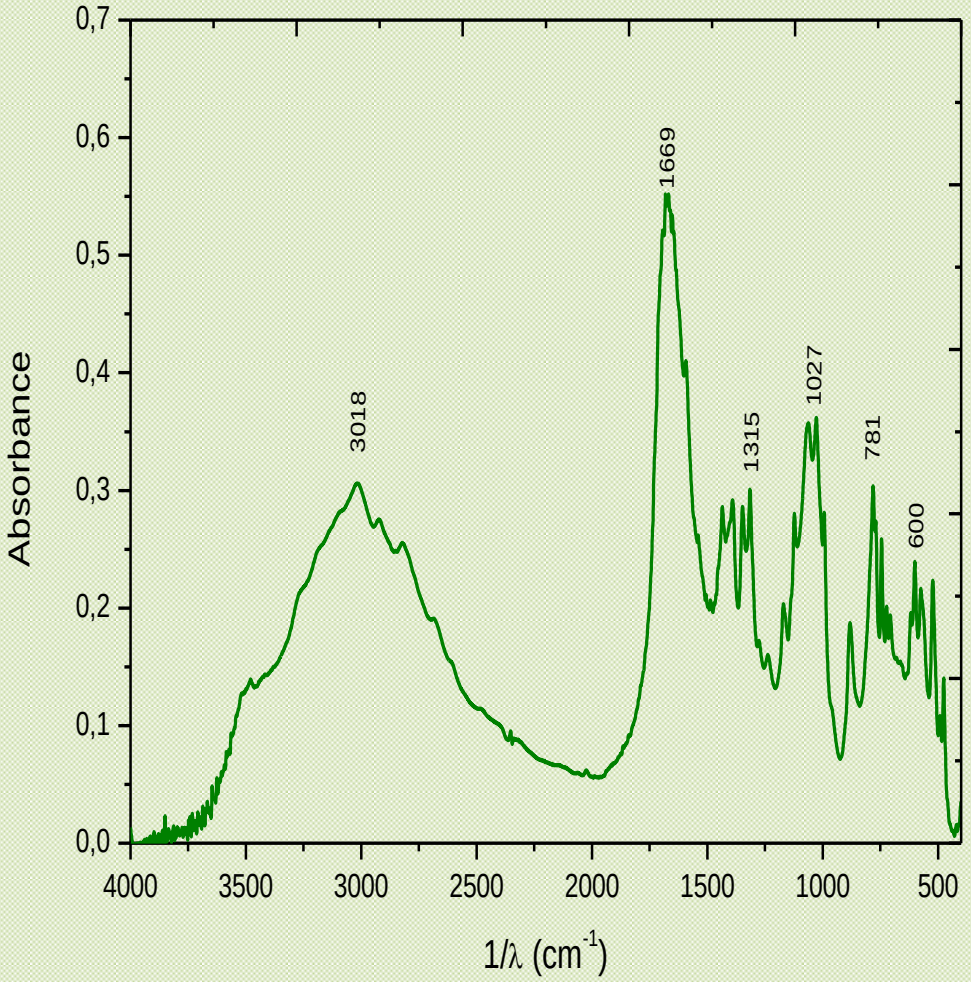


Figure 49: (échantillon 1) Spectre IRTF d'un calcul d'acide urique anhydre (majoritaire) et d'oxalate de calcium monohydraté

Le spectre IR de la figure 50 (échantillon 2) présente les bandes d'absorption des vibrations caractéristiques de l'oxalate de calcium monohydraté pur (1620, 1316, 781et 517 cm^{-1}). La large bande comprise entre 3787 cm^{-1} et 3063 cm^{-1} rend compte du massif de la molécule H_2O, à 1620 cm^{-1} correspond le pic caractéristique du groupement carboxylate (Laziri *et al,* 2007). Les vibrations à 1316 cm^{-1} et 517 cm^{-1} sont celles de la déformation dans le plan du groupement O-C-O et de l'élongation de la liaison métal-carboxylate. A 781 cm^{-1} correspond la vibration de déformation hors du plan de la molécule d'eau (Daudon *et al,* 2003).

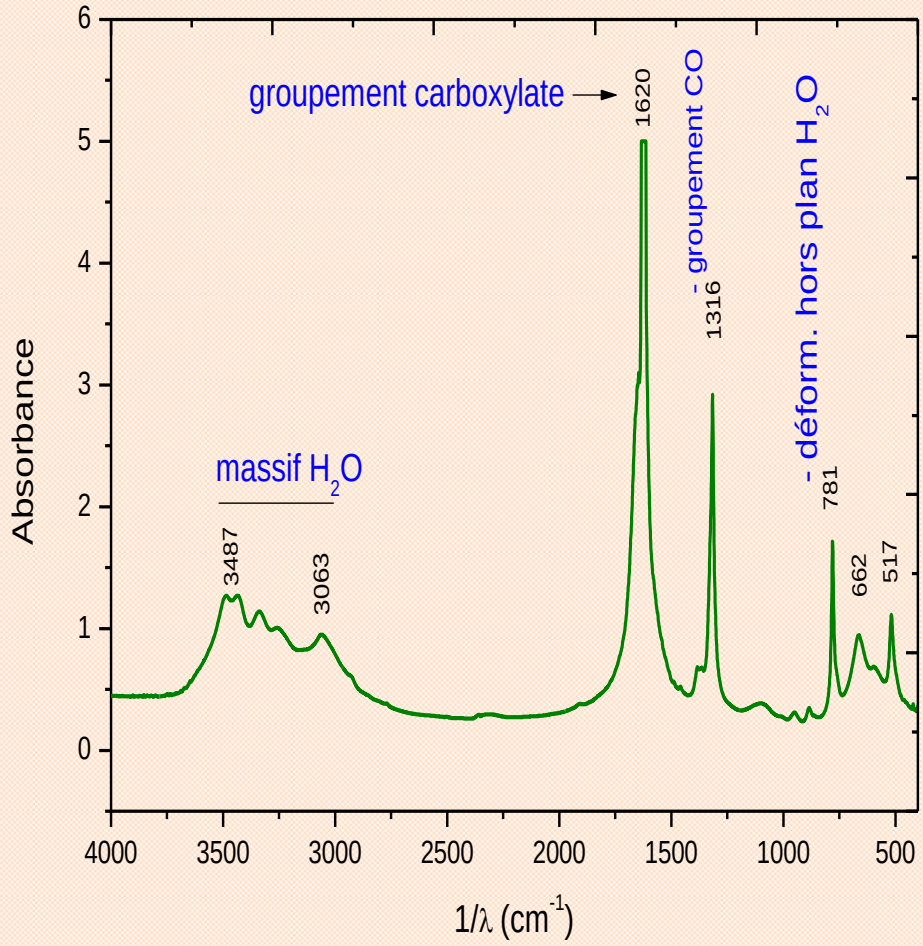


Figure 50: (échantillon 2) Spectre IRTF de l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) pur.

Le spectre de l'échantillon 3 est représenté sur la figure 51. Le principal pic à 1682 cm^{-1} correspond au groupe lactame de l'acide urique. Le massif de vibration présentant un pic à 3020 cm^{-1} représente celui du groupe lactime des formes anhydre et dihydratée de l'acide urique. Deux petits épaulements à 3515 cm^{-1} et 3481 cm^{-1} démontrent la présence de deux molécules d'eau. Ce spectre correspond à celui d'un calcul mixte d'acides uriques, majoritaire de la forme dihydraté.

Le spectre de la figure 52 (échantillon 4) montre le profil courant d'un calcul constitué d'un mélange d'oxalates et de phosphates calciques (oxalate de calcium monohydraté et phosphate de calcium carbonaté), majoritaire en oxalate de calcium monohydraté caractérisé

par les bandes d'absorption de 3485 cm^{-1} et à 3065 cm^{-1} en forme de massif pour la molécule d'eau, le pic principal du groupement carboxylate à 1620 cm^{-1} (Anderson, 2007), la vibration de valence asymétrique du groupe CO à 1316 cm^{-1} et la vibration de déformation hors du plan de l'eau qui apparait à 781 cm^{-1}. Les bandes d'absorption à 1456, 1385, 1062, 884 et 668 cm^{-1} sont attribuées aux groupes phosphate (PO_4^{3-}) et carbonate (CO_3^{2-}) de la carbapatite.

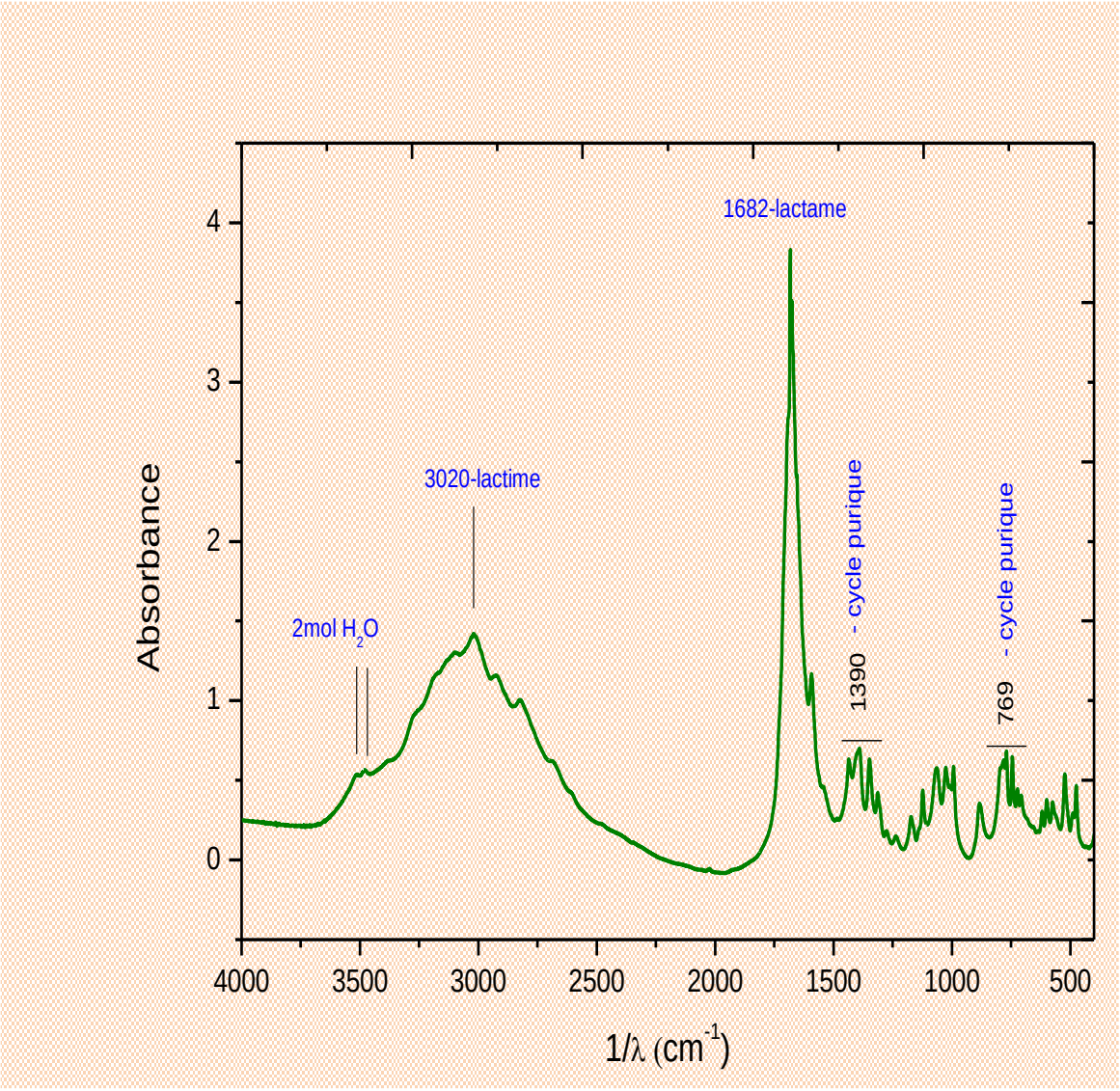


Figure 51: (échantillon 3) Spectre IRTF d'un calcul mixte d'acides uriques (AU0+AU2)

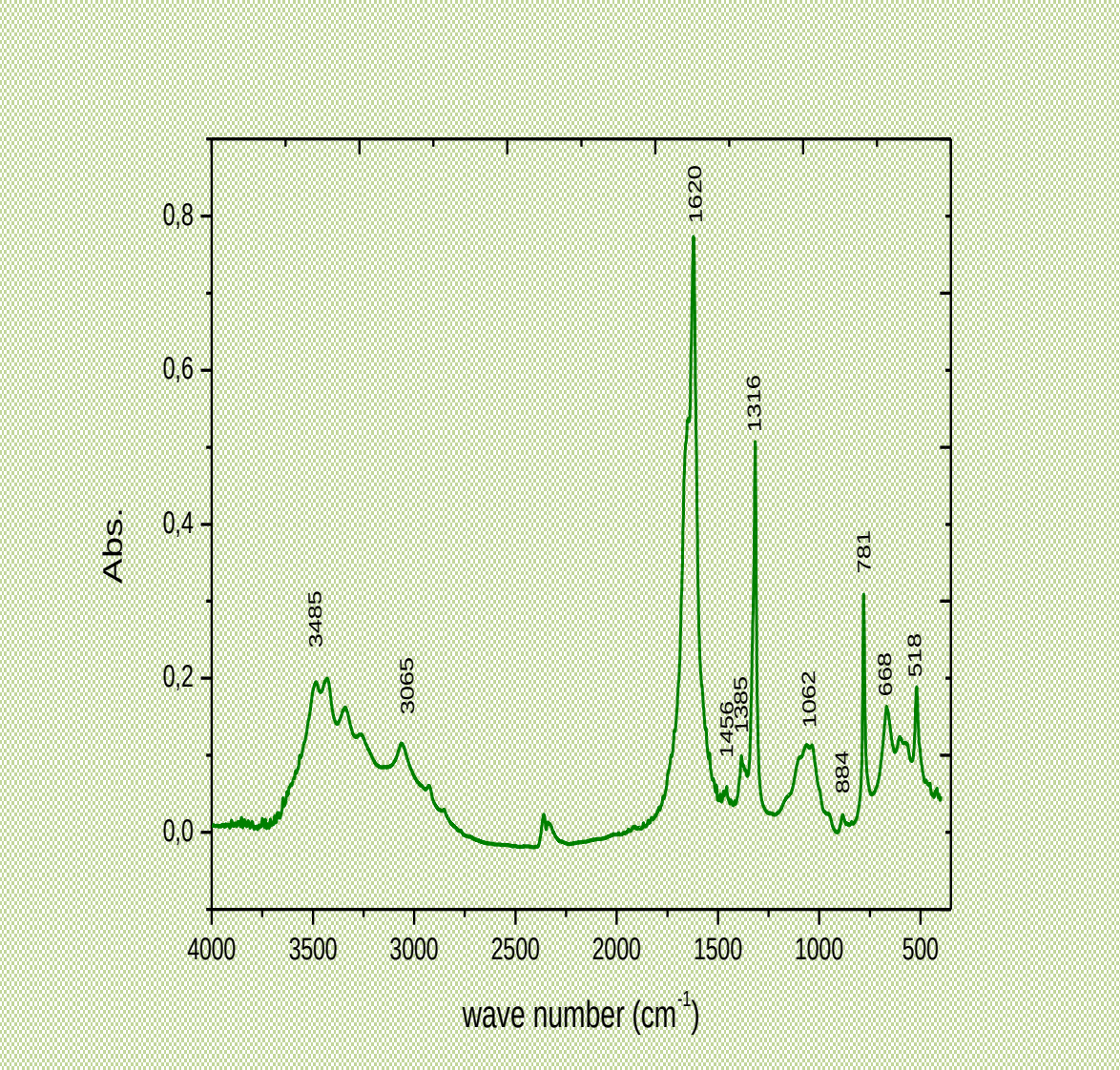


Figure 52: (échantillon 4) Spectre IRTF d'un calcul mixte constitué d'oxalate de calcium monohydraté (majoritaire) et de carbapatite

L'examen morphologique de l'échantillon 5 montre deux parties de couleurs distinctes du calcul (intérieur rougeâtre et surface blanchâtre). De ce fait, l'analyse spectrophotométrie IRTF est réalisée sur les deux parties. Les profils spectraux des deux parties sont représentés sur les figure 53 (pour le noyau) et figure 54 (pour la surface externe). Le pic principal à 1675 cm^{-1} correspond à la vibration du groupe lactame de l'acide urique. Celui apparaissant à 3012 cm^{-1} rend compte du groupe lactime de l'acide urique anhydre (Jennifer C. Anderson, 2004). On peut également noter la présence des traces de l'hydrogénophosphate de calcium dihydraté (brushite) marquée par les bandes d'absorption à 1123, 1063, 992 et à 878 cm^{-1}.

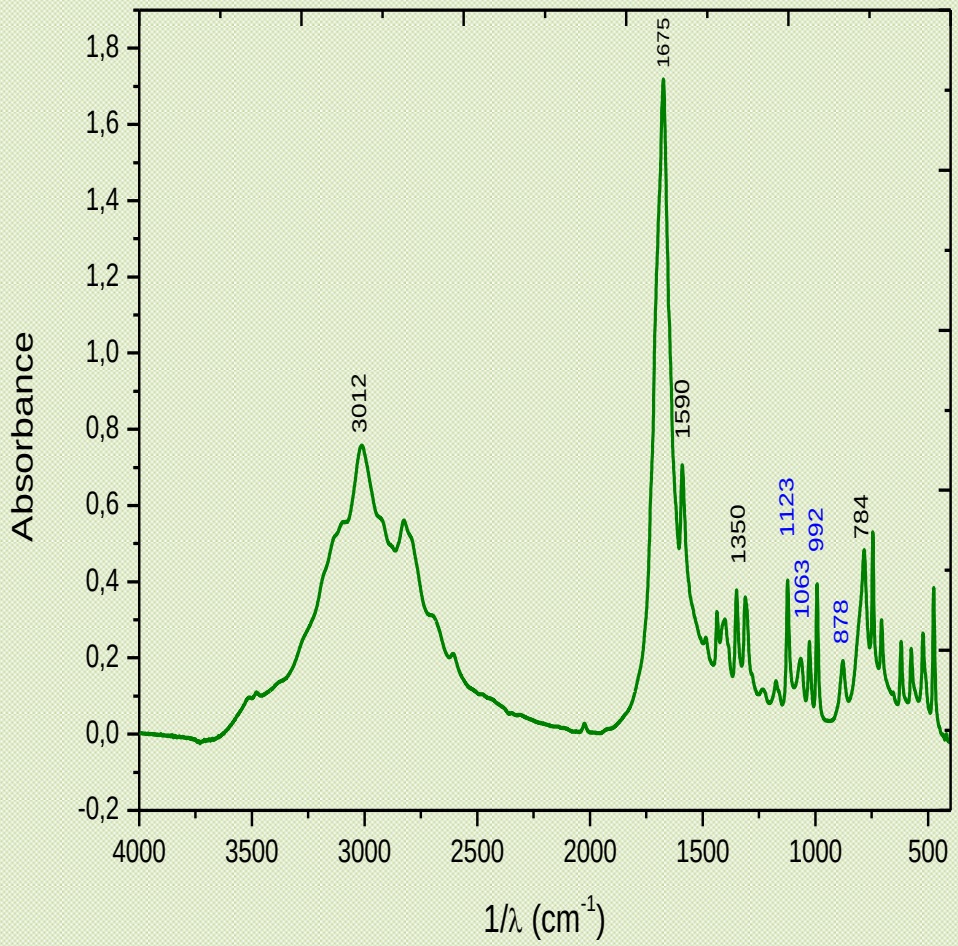


Figure 53: Spectre IRTF du noyau de l'échantillon 5N, constitué majoritairement d'acide urique anhydre et quelque trace de l'hydrogénophosphate de calcium dihydraté (brushite)

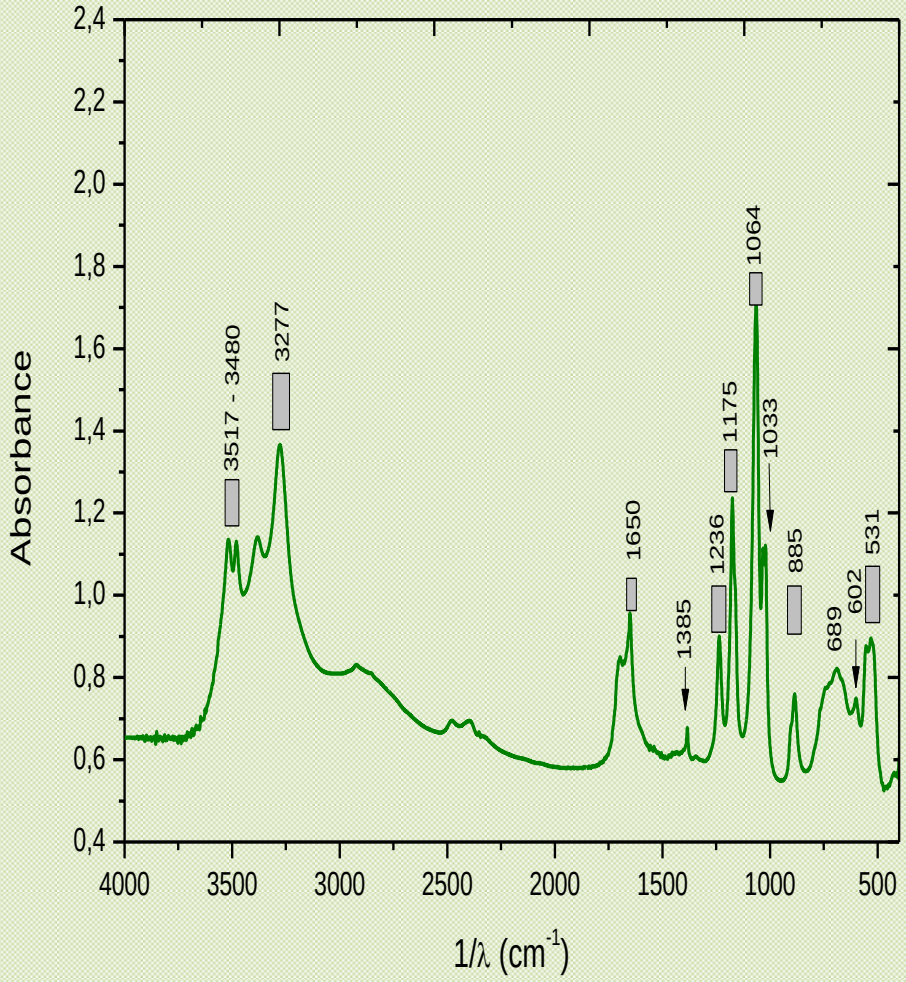


Figure 54 : Spectre IRTF de la surface externe de l'échantillon 5P, constitué phosphates calciques mixtes (brushite > carbapatite), majoritaire en brushite

Sur la figure 55, on reconnait un échantillon de calcul mixte constitué d'oxalate de calcium monohydraté (whewellite) et de phosphate de calcium carbonaté (carbapatite). Le pic principal à 1621 cm^{-1} est celui du mode de vibration de valence asymétrique du groupe carboxylate, O-C-O de la whewellite comme constituant cristallin majoritaire de ce calcul. L'observation des bandes à 1317 et 781 cm^{-1}, correspondant respectivement au groupement CO et à la déformation hors du plan de la molécule d'eau et le massif de la bande s'étendant de 3481 à 3066 cm^{-1} représentant la vibration valencielle de groupe O-H de la molécule d'eau confirment l'identité de la whewellite. Les bandes observées à 1434, 1385, 1096 et à 568 cm^{-1} sont attribuées aux vibrations des carbonate (CO_3^{2-}) et phosphate (PO_4^{3-}) de la carbapatite.

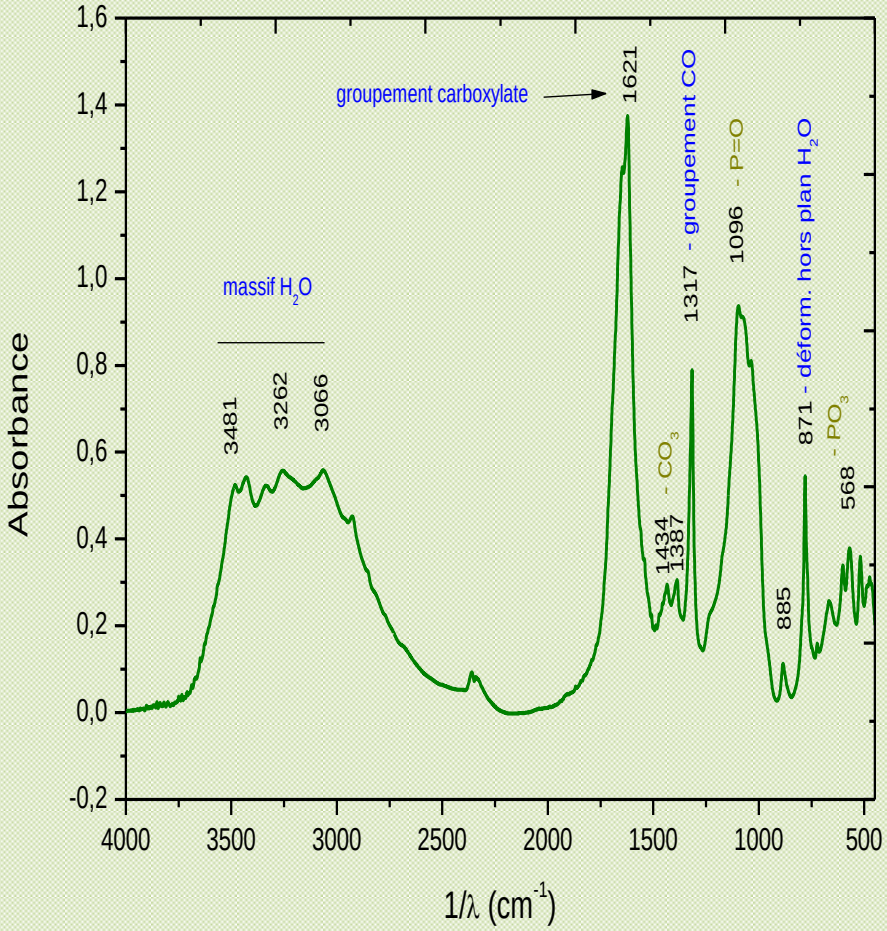


Figure 55: (échantillon 6) Spectre IRTF d'un calcul mixte de whewellite et de carbapatite

La figure 56 (échantillon 7) montre le spectre infrarouge d'un calcul formé à base de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté : une bande phosphate à 1002 cm^{-1}, une bande à 1435 cm^{-1} due à la déformation d'ion ammonium et un plateau décrochant à 2390 cm^{-1} (ν_3 OH + ν_3 NH_4^+). L'apparition de la bande à 572 cm^{-1} correspond à une vibration secondaire des phosphates. La présence d'un grand massif entre 2961 et 3262 cm^{-1} est due à la présence d'un certain nombre de molécules d'eau (Laziri F. *et al*, 2007 ; Anderson, 2004). Ce profil spectral oriente vers une infection urinaire à germe uréasique (Daudon M., 2003).

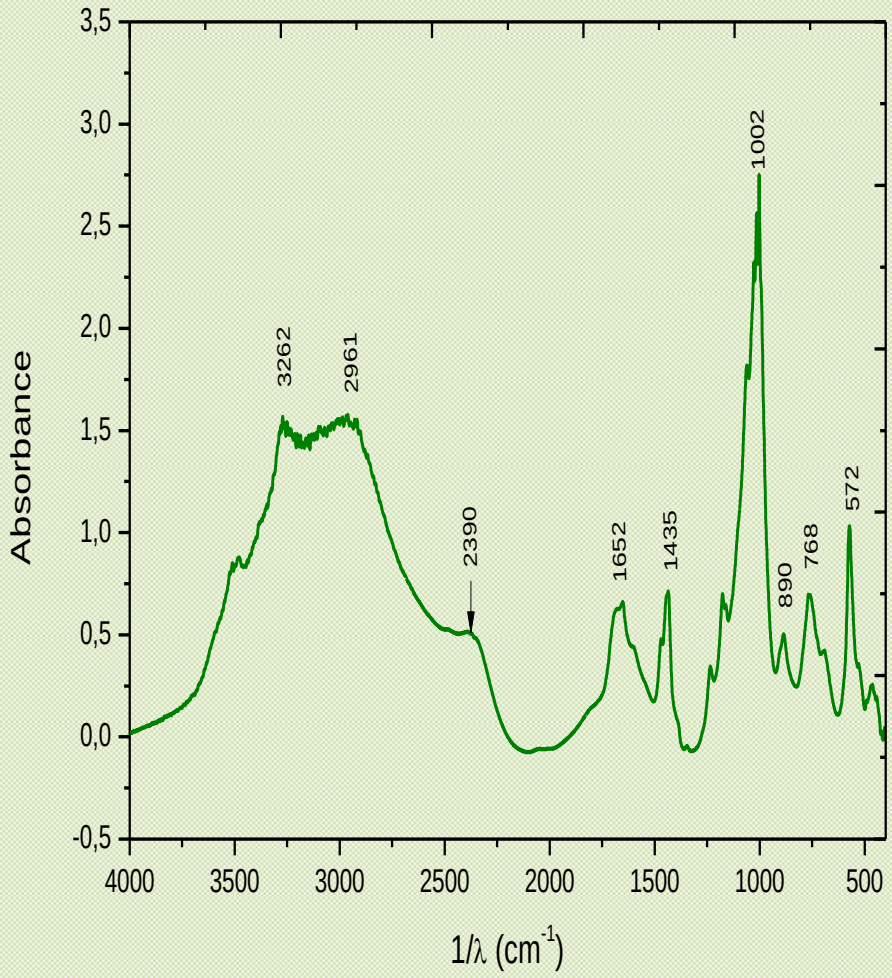


Figure 56: (échantillon 7) Spectre IRTF d'un calcul de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (struvite)

La figure 57 représente le spectre infrarouge de l'échantillon 8. Les bandes d'absorption à 3486, 3063, 1621, 1316 et à 781cm^{-1} sont caractéristiques de la whewellite (Anderson, 2004 ; Daudon M., 2003), la bande observée à 1099 cm^{-1} corresponde au mode de vibration d'élongation v_1 et v_3 de la liaison P-O et à 598 cm^{-1} correspond la vibration de déformation des liaisons O-P-O du phosphate de la carbapatite (Bazin D. *et al*, 2009 ; Carpantier *et al.*, 2009). Les bandes d'absorption notées à 2341, 1434, 1008 et à 885 cm^{-1} témoignent de la présence de la struvite dans ce mélange (Anderson, 2004). Ce profil correspond à une association des types morphologiques Ia+IVc dont les orientations étiologiques sont une infection à micro-organisme uréasique et une hyperoxalurie (Daudon M., 1998 ; Daudon M., 2003).

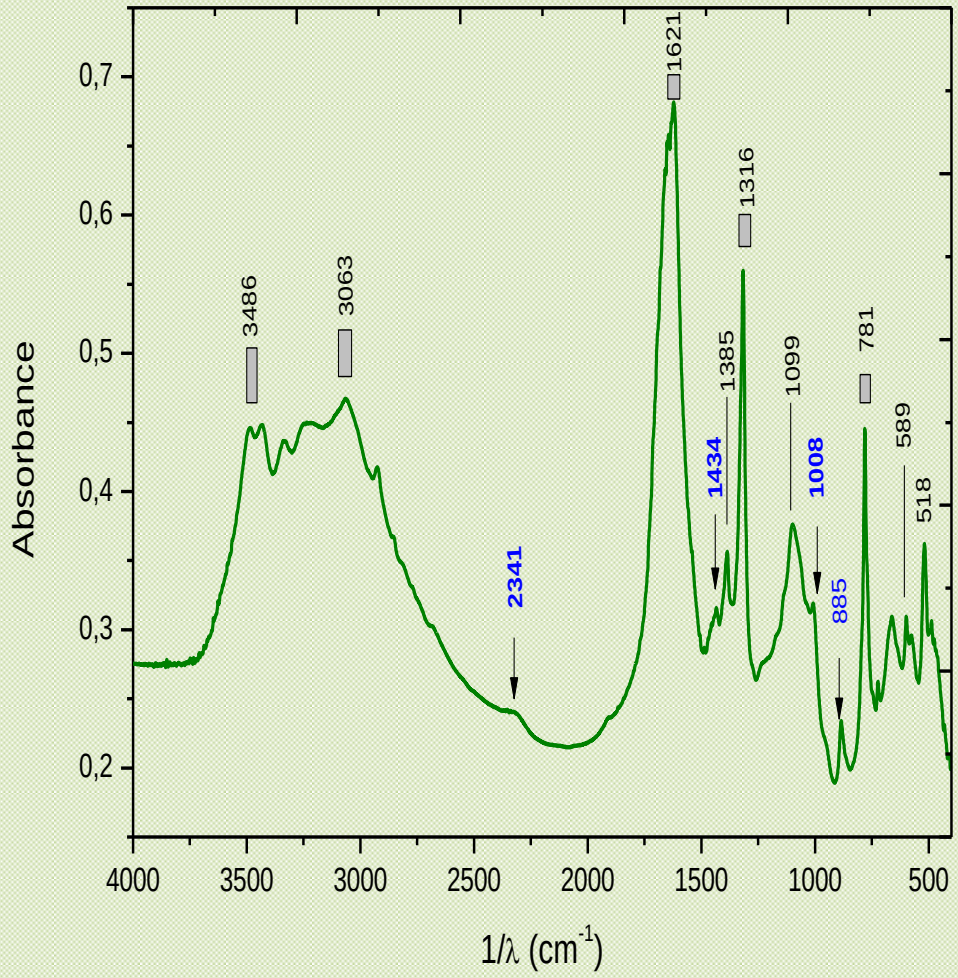


Figure 57: (échantillon 8) Spectre IRTF d'un calcul mixte (Whewellite > Carbapatite > Struvite), majoritaire en whewellite.

Le spectre de la figure 58 est celui de l'échantillon 9. C'est le profil d'un calcul pur de phosphate ammoniacomagésien hexahydraté (struvite). On reconnait le massif des molécules d'eau représenté par la bande forte dont le sommet se situe à 2963 cm^{-1} dû à l'étirement de la liaison O-H de la molécule d'eau, l'absorption modérément forte à 1652 cm^{-1} est assignée à la déformation dans le plan du groupe OH (Daudon M., 1998). Le pic à 1434 cm^{-1} est celui de l'ion ammonium $NH4^{+}$ et les bandes à 1008, 760 et à 570 cm^{-1} correspondent aux vibrations de l'ion phosphate PO_4^{3-} (Bazin D. *et al*, 2009). Ce profil spectral correspond à une pathologie

liée à une infection des voies urinaires à germes uréasiques dont le type morphologique du calcul est IVd selon la classification de Daudon (Daudon M. *et al*, 1999).

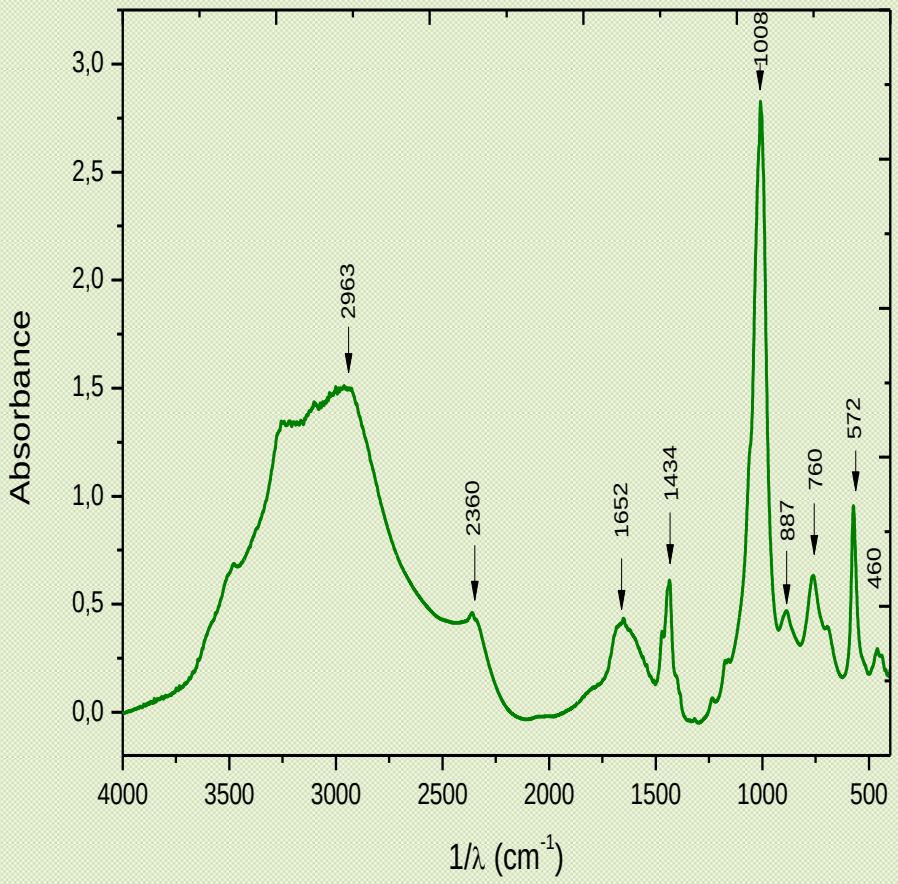


Figure 58: (échantillon 9) Spectre IRTF d'un calcul de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (struvite) pur.

Le spectre de la figure 59 de l'échantillon 10 présente les bandes caractéristiques de l'oxalate de calcium dihydraté ; la weddellite caractérisée par des bandes d'absorption à 1645 cm^{-1} (bande C=O) à 1320 cm^{-1} (bande C-O) à 781 cm^{-1} (déformation H_2O hors du plan) et de la carbapatite, à 1037 cm^{-1} (vibration de valence asymétrique PO_4), à 605 et 517 cm^{-1} (vibrations secondaires du phosphate). Ce profil correspond au type morphologique associé entre IIa et IVa, dont les principales étiologies sont l'hypercalciurie, l'hyperparathyroïdie primaire ou secondaire (Laziri F. *et al*, 2007 ; Daudon M. *et al*, 2003).

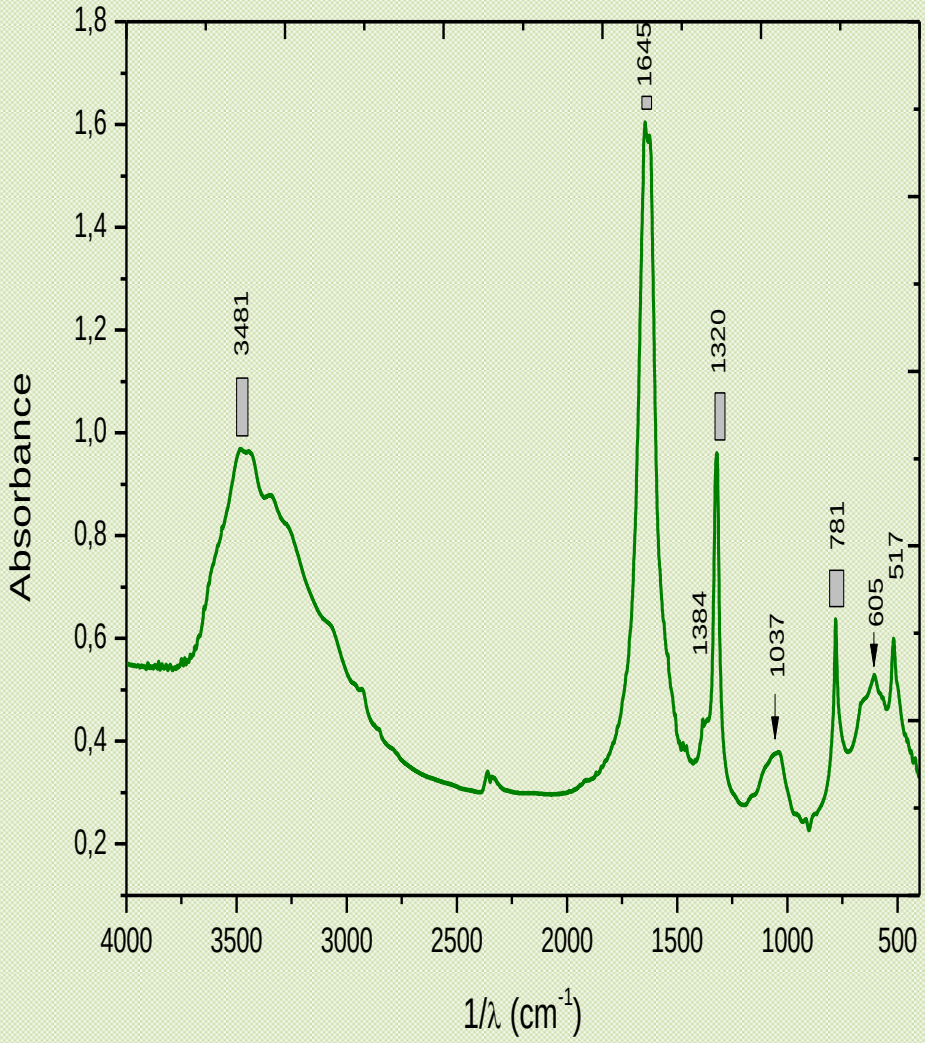


Figure 59: (échantillon 10) Spectre IRTF d'un calcul mixte d'oxalate de calcium dihydraté (weddellite) et de carbapatite

3.4. Corrélation entre les méthodes d'analyse.

Pour les trois méthodes d'analyse morpho-constitutionnelle utilisées ; la stéréomicroscopie binoculaire couplée à la microscopie optique à lumière polarisée (SMB+MOLP), la microscopie électronique à balayage (MEB) et la spectrophotométrie moyen infrarouge à transformée de Fourier (SIR-TF), les résultats obtenus sont comparés deux à deux entre ces méthodes. Pour les 137 échantillons de la zone de Tadla-Azilal

analysés, On relève une bonne corrélation entre les trois méthodes : les observations sont similaires à 98,9% des cas entre la MEB et la SIR-TF, 94,5% entre la SMB-MOLP et la SIR-TF et à 92,2% entre la SMB-MOLP et la MEB. Quelques différences sont relevées entre les observations des trois méthodes; certains constituants observés par une méthode est absente par l'autre. C'est le cas des oxalates de calcium, plus identifies sous la forme monohydraté (whewellite) par la MOLP tandis qu'il est plus présent sous la forme dihydraté (weddellite) par la MEB et la SIR-TF. C'est également le cas de l'acide urique, plus observé sous la forme dihydratée par la MOLP et anhydre par la MEB et la SIR-TF.

Pour les dix échantillons présentés dans les paragraphes ci-dessus, les résultats des différentes méthodes sont regroupés dans le tableau 8 où les types morphologiques correspondant sont associés.

Tableau 8: Récapitulatif des résultats d'analyse morpho-constitutionnelle par différentes techniques

Echantillon	Type morphologique	MOLP	MEB	IRTF
N°1	Ia+IIIb	OCM + AU2*	AU2	AU0 + OCM
N°2	Ib	OCM *	OCM	OCM
N°3	IIIa	AU0* + OCM	OCM	AU2 + AU0
N°4	Ib	OCM + OCD*	OCM	OCM + CA
N°5	IVb	CA*+PAM*	PAM+CA	AU0 + Brush*
N°6	Ia + IVa	E.N.I.*	CA	OCM +CA
N°7	IVc	E.N.I.	CA + PAM	PAM
N°8	Ib	E.N.I.	OCM	OCM + PAM+CA
N°9	IVc	PAM	PAM + CA	PAM
N°10	IIb	OCD + E.N.I.	OCM	COD + CA

AU2 : acide urique dihydraté, AU0* : acide urique anhydre, OCM* : oxalate de calcium monohydraté, OCD*** :** oxalate de calcium dihydraté, CA* : carbapatite, PAM* : phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté, Brush* : brushite, E.N.I : espèce non identifiée*

3.5. Homogénéité des calculs

La synthèse des résultats des trois méthodes d'analyse nous permet d'identifier un à quatre constituants pour certains calculs mixtes. La plupart des calculs sont constitués d'au

moins deux constituants. Sur les 137 calculs analyses, 32 sont purs (constitués d'un seul constituant) et sont constitués pour la plupart de l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite), soit un pourcentage de 23,36%. 107 sont mixtes (78,10%). La plus grande association contient trois constituants cristallins différents. L'exemple est le cas de l'échantillon 8 dont le spectre IRTF (figure 57) révèle la présence 3 constituants cristallins : la whewellite, la carbapatite et la struvite. Les associations les plus fréquentes sont : whewellite + acide urique, whewellite + carbapatite + struvite et whewellite + carbapatite + protéine.

3.6. Répartition des calculs urinaires suivant leur étiologie

L'hétérogénéité des calculs présentée au paragraphe 3.5 nous a amené à proposer une répartition suivant les relations « Morphologie-Constitution- Etiologie » connues pour la cristallogenèse (nucléation) et la calculogenèse (développement du calcul proprement dite). Ainsi pour un but de contribuer à une approche étiologique de l'urolithiase et, grâce à l'observation à l'œil nu, à la loupe binoculaire, au MOLP ou au MEB, nous avons pu classifier les 137 échantillons (calcul entier et fragment de calcul) du présent travail selon le contexte étiologique de la formation du calcul (tableau 9).

- La présence d'une Plaque Randal oriente vers une atteinte des cellules de l'épithélium rénal. Ce qui initie la formation du calcul.
- Certains calculs malgré leur hétérogénéité, présentent un noyau central. La formation de ces types de calcul est induite par sursaturation en espèces lithogènes.
- L'acide urique est connu comme inducteur de formation des calculs oxalo-calciques (l'oxalate de calcium monohydraté) par le phénomène d'épitaxie sans hyperoxalurie ni d'hypercalciurie franche (Grases F. *et al*, 2007). Ces calculs constituent également une classe étiologique.
- L'existence de couches concentriques dans un calcul est symptomatique d'une infection urinaire. C'est le cas des calculs de d'urate acide d'ammonium et des calculs de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (struvite). Une autre classe étiologique leur est attribuée en excluant les calculs d'acide urique dont la forme anhydre peut présenter des couches concentriques radiales et faisant déjà l'objet d'une classe.
- Les calculs d'oxalates de calcium (whewellite et weddellite) sont de loin les plus fréquents, mais sont ceux dont l'étiologie est plus complexe. Ces deux formes, les plus fréquentes, sont liées par une conversion cristalline par perte de molécules d'eau, mais peuvent authentiquement se former, l'une ou l'autre, à partir d'une étiologie propre que sont

l'hyperoxalurie et / ou l'hypercalciurie, voir une forme idiopathique. Il est donc nécessaire de différentier les cristaux authentiques de ceux formés par conversion cristalline d'une espèce. Ce qui nous permet d'attribuer un type aux calculs dont les cristaux d'oxalate de calcium monohydraté compacts et oviformes au MOLP et en gros cristaux au MEB sont formés directement sans conversion de la forme dihydratée (weddellite). L'autre type est attribué à l'oxalate de calcium monohydraté poreux au MOLP et en petits cristaux au MEB provenant de la transformation de l'OCD par perte d'une molécule d'eau.

Tableau 9: Classification des calculs selon le contexte étiologique de leur formation

Echantillon	**Calcul entier**	**Fragment de calcul**	**Total**
Noyau vers la plaque de Randal	05	-	05
Noyau au centre (sans AU et sans couches concentriques)	32	03	35
Noyau d'acide urique	48	03	51
Existence de couches concentriques	10	03	13
OCM authentique (compact au MOLP et en petits cristaux au MEB)	16	07	23
OCM dérivant de OCD (poreux au MOLP et en gros cristaux au MEB)	09	-	09
Autres calculs ou fragments	01	-	01
Total	**121**	**16**	**137**

3.7. Profil chimique des constituants des calculs

3.7.1. Profil général en fonction des constituants majoritaires

Certaines espèces cristallines telles que la whewellite, la carbapatite ou l'acide urique se sont révélés les plus fréquentes et majoritaires dans les calculs dans les deux séries. Les tableaux 10 et 11 donnent la répartition des calculs en fonction des constituants cristallins et chimiques majoritaires. Il ressort de ces tableaux que l'oxalate de calcium est l'espèce chimique la plus majoritaire (62,77% pour Tadla-Azil et 63,16% pour Yagoua) suivie des phosphates de calcium (18,98% contre 15,79%), puis des purines (13,14% et 11,84%), de la struvite (5,97% et 6,58%) et enfin du cholestérol identifié dans un cas dans la série de Tadla-Azilal à l'état pur

pour un pourcentage de 0,73%. Quant aux espèces cristallines, la whewellite est majoritaire dans les deux séries, soit une fréquence de 55,47% pour Tadla-Azilal et 53,95% pour Yagoua, suivit la carbapatite à (16,79% et 14,47%), puis de l'acide urique anhydre et de la weddellite (7,3% et 9,21%). La struvite est majoritaire à 4,38% pour Tadla Azilal et 06,58%. Cependant, il y a lieu de signaler pour certaines espèces si bien fréquemment observées dans les calculs mixtes sans toutefois être majoritaire. C'est le cas des protéines observées dans 10 cas comme constituant minoritaire du calcul, des urates amorphes complexes et de la brushite.

Tableau 10: répartition des calculs en fonctions des constituants majoritaires (série de Tadla-Azilal)

Constituants	Nombre	Fréquence (%)
OxCa*	**86**	**62,77**
OCM*	76	55,47
OCD*	10	7,30
PhCa*	**26**	**18,91**
CA*	23	16,76
Brush*	1	0,73
PACC*	2	1,46
Purines	**18**	**13,14**
AU2	4	2,90
AU0	10	7,30
UrAm*	4	2,90
PAM*	**6**	**4,38**
Chol*	**1**	**0,73**
Total	**137**	**100**

OxCa : oxalate de calcium ; PhCa* : phosphate de calcium ; PACC* : phosphate amorphe de calciul carbonaté ; CA* : carbapatite ; Brush* : brushite ; AU0* : acide urique anhydre ; AU2* : acide urique dihydraté ; UrAm* : urate acide d'ammonium ; PAM* : phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté ; Chol* : cholestérol.*

Tableau 11: répartition des calculs en fonctions des constituants majoritaires (série de Yagoua)

Constituants	Nombre	Fréquence (%)
OxCa	**48**	**63,16**
OCM	41	53,95
OCD	07	09,21
PhCa	**12**	**15,79**
CA	10	13,16
PACC	02	02,63
Purines	**09**	**11,84**
AU2	01	01,32
AU0	07	09,21
UrAm	01	01,32
PAM	**07**	**06,58**
Autres	**02**	**02,63**
Total	**76**	**100**

3.7.2. Distribution des constituants majoritaires des calculs en fonction de l'âge et du sexe.

Afin d'évaluer l'influence de l'âge et du sexe sur la composition cristalline des calculs, les données de l'analyse morpho-constitutionnelle sont regroupées dans un tableau suivant les tranches d'âge chez l'homme et chez la femme (tableau 14 et tableau 15). Les valeurs de ces tableaux sont représentées sur un graphe en histogramme.

Pour une question de visibilité de l'effet de l'âge et du sexe des patients sur la composition chimique de leur calculs correspondants, nous avons réparti les hommes, de même que pour les femmes, en 6 classes d'âges telles que :

- âge < 20 ans, dont la tranche est notée "< 20",
- 20 ≤ âge ≤ 30 ans dont la tranche est notée "20-30",
- 30 < âge ≤ 40 ans, dont la tranche est notée "31-40",
- 40 < âge ≤ 50 ans, dont la tranche est notée "41-50",

- 50 < âge ≤ 60 ans, dont la tranche est notée "51-60",
- 60 ans< âge, dont la tranche est notée "> 60".

Il ressort des tableaux 12 et 13 que la fréquence des constituants majoritaires des calculs augmente avec l'âge indépendamment du sexe pour atteindre son pic dans la tranche de 41 à 50 ans. Elle décroit lors que l'âge dépasse 50 ans. Pour la tranche de 41 à 50 ans, on observe une prédominance de l'oxalate de calcium chez l'homme, tandis que chez la femme, on a plutôt la prédominance des calculs de phosphates de calcium. On peut également déduire des deux tableaux justes cités une prédominance masculine avec un rapport homme/femme d'environ 1,85. Si un cas de calcul d'oxalate de calcium (whewellite) est observé pour la tranche d'âge inférieur à 20 ans, aucun cas n'est observé chez la femme pour cette tranche d'âge, l'apparition des cas est observée à partir de 21 ans.

Tableau 12: Répartition des constituants majoritaires en fonction de l'âge chez l'homme

	Tranches d'âges (ans)					
Constituants	**< 20**	**20-30**	**31-40**	**41-50**	**51-60**	**>60**
OxCa*	**1**	**6**	**9**	**24**	**15**	**3**
OCM	1	3	5	24	13	3
OCD	-	3	4		2	-
PhCa*	**-**	**-**	**1**	**2**	**2**	**1**
CA	-	-		2	2	1
PACC*	-	-	1	-	-	-
Purines	**-**	**-**	**2**	**3**	**4**	**1**
AU0	-	-	1	1	3	-
AU2	-	-	-	1	1	1
UrAm*	-	-	1	1	-	-
PAM	**-**	**1**	**-**		**1**	**-**
Total	**1**	**7**	**12**	**29**	**22**	**5**

Tableau 13: Répartition des constituants majoritaires en fonction de l'âge chez la femme

constituants	Tranches d'âges (ans)					
	< 20	**20-30**	**31-40**	**41-50**	**51-60**	**> 60**
OxCa	**-**	**2**	**8**	**6**	**6**	**4**
OCM	-	2	7	5	6	4
OCD	-	-	1	1		-
PhCa	**-**	**-**	**2**	**12**	**5**	**1**
CA	-	-	1	10	5	1
Brushite	-	-	1	-	-	-
PACC	-	-	-	2	-	-
Purines	**-**	**-**	**2**	**4**	**2**	**-**
AU0	-	-	1	3	1	-
AU2	-	-		1	-	-
UrAm	-	-	1		1	-
PAM	**-**	**1**	**2**	**3**	**-**	**-**
Chol	**-**	**-**	**-**	**1**	**-**	**-**
Total	**-**	**3**	**14**	**26**	**13**	**5**

Les histogrammes représentant la fréquence des constituants majoritaires en fonction des tranches d'âges des figures 60 et 61 permettent de mieux évaluer les prévalences observées. Il est évident d'observer la prédominance de l'oxalate de calcium monohydraté (OCM) marqué par son pic sur chacune des figures ci-après.

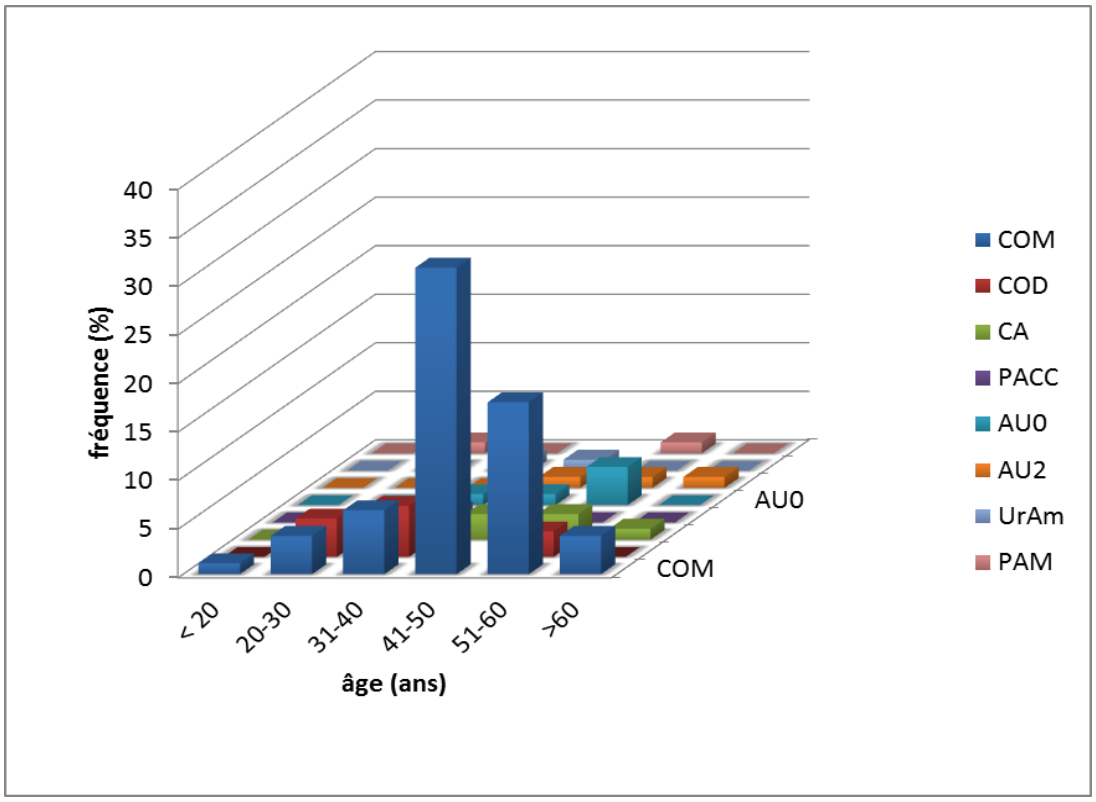


Figure 60: Distribution des constituants majoritaires en fonction de l'âge chez l'homme

3.8. Résultats de l'analyse multi-élémentaire des calculs urinaires par ICP-MS

Dans le but d'examiner le rôle de certains éléments métalliques sur la lithogenèse, dix échantillons choisis en fonction de leur composition chimique préalablement déterminée par spectrophotométrie IRTF ont fait l'objet d'une analyse multi-élémentaire par spectrométrie de masse à couplage inductif au plasma (ICP-MS). Cette analyse s'est faite en deux étapes qui sont successives : la minéralisation et l'analyse des minéraux en solutions.

3 .8.1. Teneur des calculs en matière organique

Les échantillons ont été pesés avant et après calcination au four tubulaire à 600°C environ afin de déterminer les teneurs massiques en matière organique. Le tableau 16 présente la composition chimique des échantillons déterminée par IRTF, la teneur en matière organique et le taux de matière minérale correspondante. Les composés organiques étant ceux qui comportent l'élément carbone comme élément de base, les valeurs des masses et des teneurs en matière organique confirment cette bonne corrélation pour les calculs organiques tels que ceux constitués d'acides uriques et oxalates de calcium. Ces échantillons ont une partie minérale de masse réduite (voir tableau 14).

Tableau 14: Teneur des calculs en matière organique

Code échantillon	Masse (g)			Teneur (g/100g)	Composition chimique
	Avant Calcination	Après calcination	Matière organique		
E1	2	0,28	1,72	86	CA+Brush+AU
E2	2	0,99	1,1	55	PAM($MgNH_4PO_4.6H_2O$)
E3	2	0,25	1,75	87,5	AU0 ($C_5H_4N_4O_3$)
E4	2	0,22	1,78	89	AU0 ($C_5H_4N_4O_3$)
E5	2	1,45	0,55	27,5	OCM ($CaC_2O_4.H_2O$)
E6	2	1,05	0,95	47,5	OCM>>PAM
E7	2	0,94	1,06	53	PAM
E8	2	1,28	0,72	36	***OCM***
E9	2	1,18	0,82	41	OCM
E10	2	0,67	1,33	66,5	AU2 ($C_5H_4N_4O_3.2\ H_2O$)

Les cendres minérales, résidus de la calcination sont mises en solution par attaque acide par un mélange d'acides chlorhydrique et sulfurique concentrés suivant le protocole présenté au chapitre 2. Les solutions obtenues subissent alors une analyse par ICP-MS.

3.8.2. Composition élémentaire déterminée par ICP-MS

Quelques éléments chimiques sont identifiés dans les calculs et leurs rôles dans la formation de ces derniers ont été discutés dans des travaux antérieurs (Bazin D. et al, 2006). C'est le cas des éléments : cuivre, fer (III), plomb, zinc, strontium, silicium, sélénium, pour ne citer que ceux-là (Bazin et al, 2006). Nous nous sommes intéressés à la quantification des éléments calcium (Ca), chrome (Cr), cuivre (Cu), fer (Fe) et zinc (Zn) dans nos dix échantillons. Les concentrations exprimées en partie par million ; ppm (c'est -à- dire : mg de l'élément par gramme d'échantillon) sont regroupées dans le tableau 15. Pour une prise d'éssai de 2g d'échantillon à calciner, on a : $Teneur\ mg/g\ d'échan. = (Cx50.10^{-3}x100)/2$.

Il ressort de ce tableau que le calcium est l'élément majoritaire dans tous les échantillons, suivi du fer et du zinc, puis du cuivre et du chrome qui ont des teneurs relativement faibles. Les plus grandes valeurs des concentrations en calcium sont observées pour les calculs à base d'oxalate de calcium et d'acide urique. Dans les calculs de phosphate

ammoniacomagnésien hexahydraté, ces valeurs sont également élevées (échantillons E_2 et E_6). Une fluctuation de concentration est observée d'un échantillon à l'autre pour les éléments Fe, Cu et Cr.

Tableau 15: composition élémentaire des calculs par ICP-MS

Echantillons N°	Composition chimique	Ca	Cr	Cu (ppm)	Fe	Zn
E1	CA+Brush+AU	642,5	0,2	0,35	3,1	1,625
E2	PAM	6257,5	0,375	0,45	15,35	5,35
E3	AU0	720	0,8	0,225	5,1	3,25
E4	AU0	2772,5	0,05	0,25	2	1,075
E5	OCM	1860	0,05	0,425	1,6	3,075
E6	OCM+PAM	12970	0,4	0,475	2,3	31,95
E7	PAM	2475	0,675	0,1	1,225	7,75
E8	OCM	92,5	0,7	0,2	0,875	1,45
E9	OCM	14500	0,075	0,35	14	2,05
E10	AU2	9365	0,125	0,325	14,375	2,875

3.9. Influence de la calciurie et de l'oxalurie sur la cristallisation oxalocalcique

3.9.1. Cristallurie

Les résultats de l'étude de la cristallurie ont été exprimés en termes de fréquence et de nature de l'espèce cristalline majoritaire en fonction du sexe et de l'âge des sujets. Les cristalluries étaient positives à 85% chez les lithiasiques (16 sur 20 patients lithiasiques à Maroua et 27 sur 30 lithiasiques à Tadla-Azilal) et à 22,11% pour les sujets sains (15 personnes sur 70 à Maroua et 18 sur 79 à Tadla-Azilal). L'oxalate de calcium était l'espèce chimique majoritaire la plus fréquente (tableaux 16 et 17) chez les lithiasiques (60% pour la série de Maroua et 63,33% pour celle de Tadla-Azilal) comme chez les non-lithiasiques (14,28% pour Maroua et 15,19% à Tadla-Azilal), suivi de l'acide urique et des urates (15% et 16,67% chez les lithiasiques ; puis 04,28% et 05,06% chez les sujets sains, respectivement pour Maroua et pour Tadla-Azilal). Aucune cristallurie phosphocalcique n'a été observée. L'espèce cristalline majoritaire la plus observée était l'oxalate de calcium dihydraté (OCD)

dans les deux séries (45% pour Maroua et 40% pour Tadla-Azilal pour les lithiasiques et 12,86% contre 15,19% pour les non lithiasiques) suivie de l'oxalate de calcium monohydraté (OCM), (15% pour Maroua et 23,33% pour Tadla-Azilal chez les lithiasiques et 15% contre 13,33% chez les non lithiasiques) puis de l'acide uriques et les urates. Enfin, la struvite a été identifiée chez 2 femmes lithiasiques dans la série de Maroua (10%) et 3 femmes lithiasiques dans la série de Tadla-Azilal (10%).

Tableau 16: Fréquence (%) des cristaux en composant majoritaire dans les urines en fonction du sexe et de la région chez les patients lithiasiques.

Echantillon	**Maroua /Cameroun**			**Tadla-Azilal /Maroc**		
Sexe	**hommes**	**femmes**	**total**	**hommes**	**femmes**	**total**
nombre échantillons	**N=10**	**N=10**	**N=20**	**N=15**	**N=15**	**N=30**
constituants majoritaires	**Cristalluries : nombre (fréquences%)**					
Oxalates de calcium	**8 (80,00)**	**4(40,00)**	**12 (60,00)**	**12(80,00)**	**7(46,67)**	**19 (63,33)**
OCM	3(30,00)	-	3 (15,00)	5(33,33)	2(13,33)	7 (23,33)
OCD	5(50,00)	4(40,00)	9(45,00)	7(46,67)	5(33,33)	12(40,00)
Acides uriques et urates	**1(10,00)**	**2(20,00)**	**3(15,00)**	**2(13,33)**	**3(20,00)**	**5(16,67)**
AU0	-	-	-	-	-	-
AU2	1(10,00)	2(20,00)	3(15,00)	1(06,67)	3 (20,00)	4(13,33)
UAC*	1(10,00)	-	-	1(06,67)	-	1(03,33)
PAM	**-**	**2(20,00)**	**2(10,00)**	**-**	**3(20,00)**	**3(10,00)**
CN*	**1(10,00)**	**2(20,00)**	**3(15,00)**	**1(06,67)**	**2(13,33)**	**3(10,00)**
Total	**10 (100)**	**10 (100)**	**20 (100)**	**15 (100)**	**15(100)**	**30 (100)**

UAC : urate amorphe complexe ; CN* : cristalluries négatives.*

Tableau 17: Fréquence (%) des cristaux en composant majoritaire dans les urines en fonction du sexe et de la région chez les sujets sains

Echantillon	**Maroua /Cameroun**			**Tadla-Azilal /Maroc**		
sexe	**hommes**	**femmes**	**total**	**hommes**	**femmes**	**total**
nombre échantillons	**N=35**	**N= 35**	**N=70**	**N=40**	**N=39**	**N=79**
constituants majoritaires	**Cristalluries : nombre (fréquences%)**					
Oxalates de calcium	**6 (17,14)**	**4(11,43)**	**10(14,28)**	**7(17,50)**	**5(12,82)**	**12(15,19)**
OCM	1(02,86)	-	1(01,43)	5(12,50)	2(05,12)	7 (08,86)
OCD	5(14,23)	4(11,43)	9(12,86)	7(17,50)	5(12,82)	12(15,19)
Acides uriques et urates	**1(02,86)**	**2(05,71)**	**3(04,28)**	**1(02,50)**	**3(07,69)**	**4(05,06)**
AU0	-	-	-	-	1(02,56)	1(01,26
AU2	-	2(05,71)	5(07,14)	-	2 (05,13)	2(05,82)
UAC	1(02,86)	-		1(02,50)	-	1(01,26)
PAM	**-**	**2(05,71)**	**2(02,86)**	**-**	**2(05,13)**	**2(02,53)**
CN	**28(80,00)**	**27(77,14)**	**55(78,57)**	**32(80,00)**	**29(74,36)**	**61(77,21)**
Total	**35(100)**	**35(100)**	**70(100)**	**40(100)**	**39(100)**	**79 (100)**

Les principaux faciès des espèces cristallines les plus fréquentes (oxalate de calcium dihydraté, oxalate de calcium monohydraté, la struvite acide urique dihydraté et urates) sont présentées sur les Figures 61 à 64.

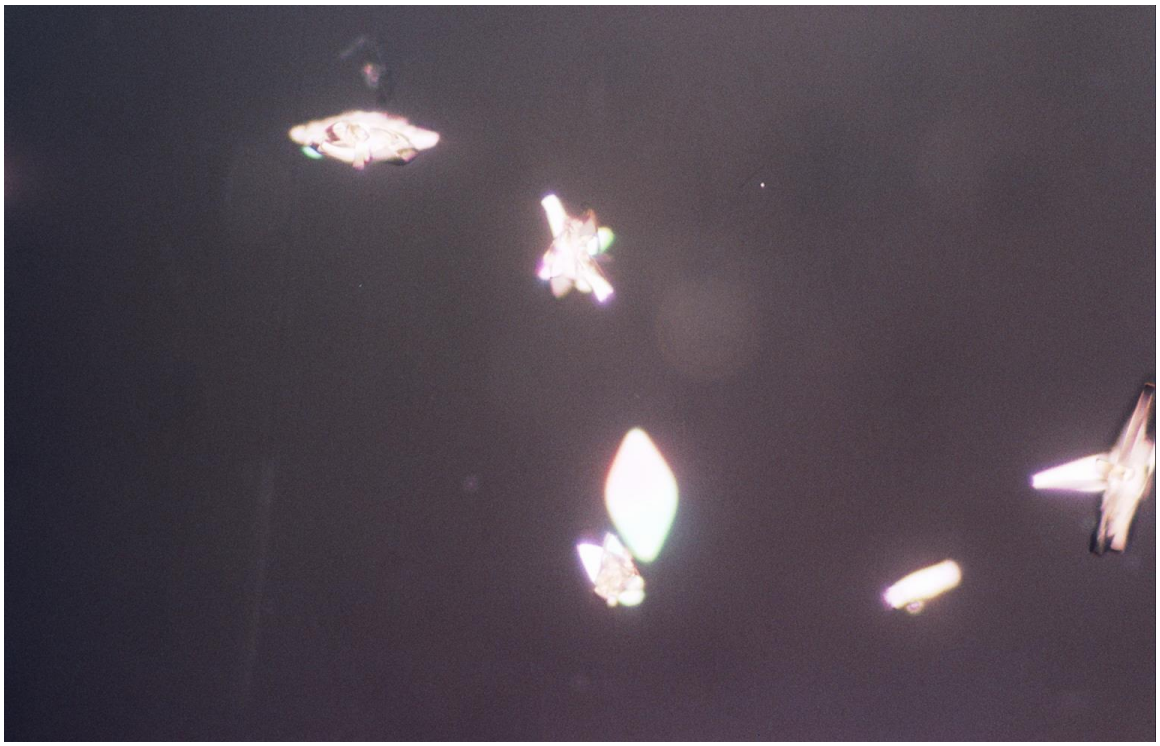


Figure 61: Cristallurie d'acide urique dihydraté composé de volumineux agrégats de cristaux tubulaires observés par MOLP dans une urine à pH=5,5

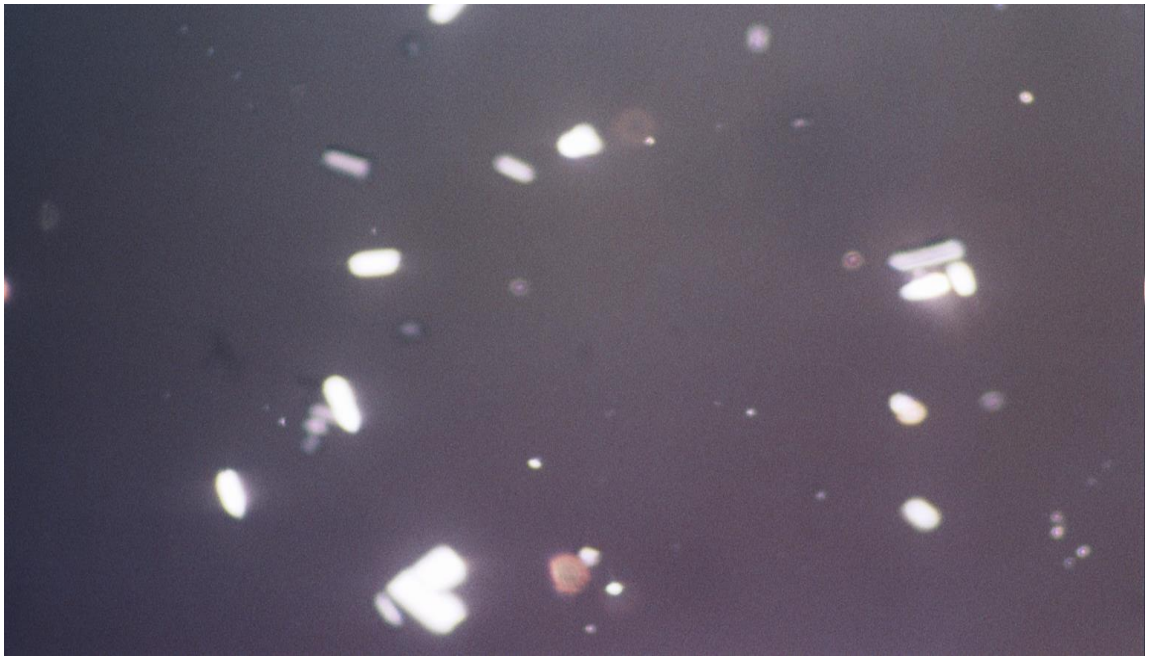


Figure 62: Cristallurie d'oxalate de calcium monohydraté, constitué des cristaux ovales observés par MOLP, pH= 6,2

Figure 63: Cristallurie mixte de whewellite (petits cristaux à centre déprimés) et de struvite (gros cristal cruciforme à branches non orthogonales), pH=7,8

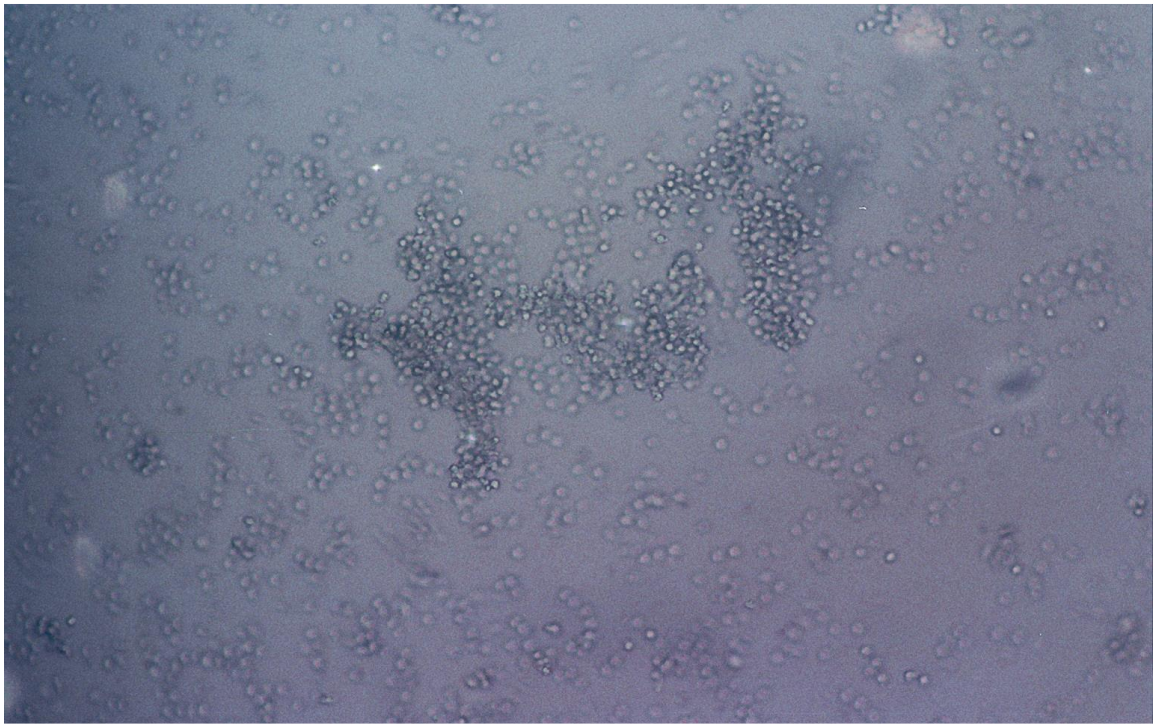


Figure 64: Précipitation de fines granulations non polarisantes d'urates amorphes complexes observées par MOLP, pH=6,1

- **Répartition des cristalluries suivant l'âge et le sexe des sujets**

Les échantillons de chaque série ont été regroupés en classe d'âges. Ainsi, les nombres de cristalluries observées ont été également repartis dans ces classes (tableau 18). Pour la série de Maroua, aucune cristallurie n'a été observée pour les classes d'âges inférieures à 18 ans et supérieures à 60 ans. Cependant, un pic de fréquence de cristallurie (19 cas sur 21 échantillons) a été observé pour la classe de 31 à 45 ans. Le résultat est semblable dans la même tranche d'âge pour la série de Tadla-Azilal (20 cas sur 32 échantillons). Aussi, il faut signaler l'absence de cristallurie d'acide urique anhydre (AU0) dans la série de Maroua et 2 cas dans celle de Tadl-Azilal.

Tableau 18: Fréquence des cristalluries majoritaires (nombre) en fonction de l'âge

Echantillons nombre	**Maroua/Cameroun N=90**					**Tadla-Azilal/Maroc N=109**				
Classe d'âges (nombre)	**<18 (17)**	**18-30 (28)**	**31-45 (21)**	**46-60 (14)**	**≥ 61 (10)**	**<18 (9)**	**18-30 (39)**	**31-45 (32)**	**46-60 (24)**	**≥61 (5)**
OxCa	**-**	**1**	**13**	**6**	**-**	**1**	**12**	**13**	**8**	**4**
OCM	-	-	3	1	-	1	5	5	3	-
OCD	-	1	10	5	-	-	7	8	5	4
Purines	**-**	**3**	**4**	**4**	**-**	**-**	**2**	**5**	**3**	**-**
AU0	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
AU2	-	3	4	3	-	-	1	3	2	-
UAC	-	-	-	1	-	-	1	-	1	-
PAM	**-**		**2**	**2**	**-**		**1**	**2**	**2**	**-**
Total	**-**	**4**	**19**	**12**	**-**	**1**	**15**	**20**	**13**	**4**

3.9.2. Dosage chimique volumétrique des calciurie et oxalurie apparentes

L'influence des concentrations apparentes en calcium et oxalate (Ca.app et Ox.app. respectivement) est appréciée en reportant leurs valeurs dans diagramme établi en coordonnées logarithmiques (figures 3.35 et 3.36). Le même traitement est appliqué aux données secondaires obtenues en calculant le produit et les rapports des concentrations des deux espèces ioniques (figure 3.37 et 3.38). Aucune crixtallurie mixte (OCM+OCD) n'a été observée dans la série de Maroua.

Il ressort des diagrammes des figures 65 à 68, la présence des cristalluries augmente avec les concentrations apparentes en calcium et en oxalate d'une part, et avec leur produit et leur rapport d'autre part. La présence des faciès cristallines (OCM et OCD) dépendent également de ces paramètres : plus les valeurs des concentrations s'élèvent, plus on observe les cristalluries de OCD. Cette apparition évoluait également dans le même sens de l'augmentation des paramètres secondaires produit s et rapport des concentrations

($[Ca^{2+}].[Ox^{2-}]$ et $[Ca^{2+}] /[Ox^{2-}]$).

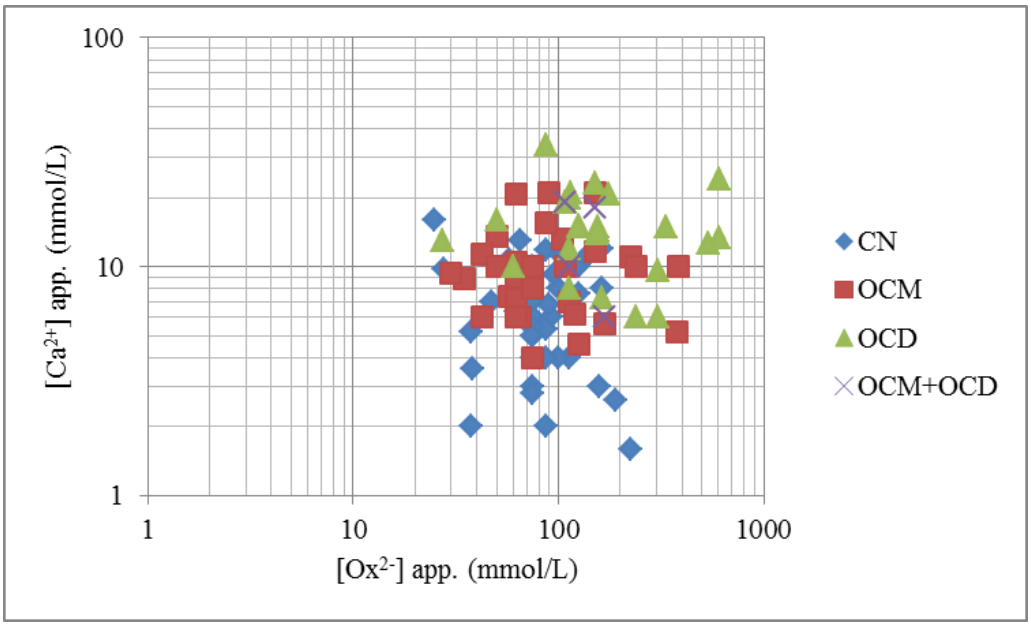


Figure 65: Diagramme des concentrations apparentes en calcium urinaire en fonctions des concentrations apparentes des oxalates : série de Tadla-Azilal (CN : cristalluries négatives, OCM : oxalate de calcium monohydraté, OCD : oxalate de calcium dihydraté)

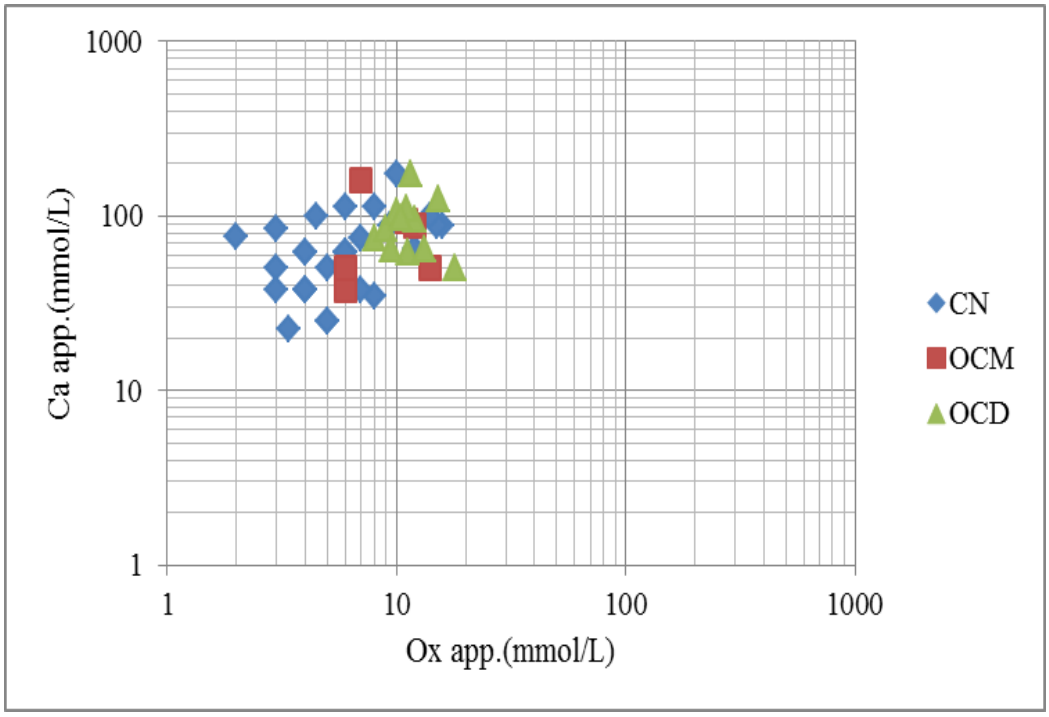


Figure 66: Diagramme des concentrations apparentes en calcium urinaire en fonctions des concentrations apparentes des oxalates : série de Maroua

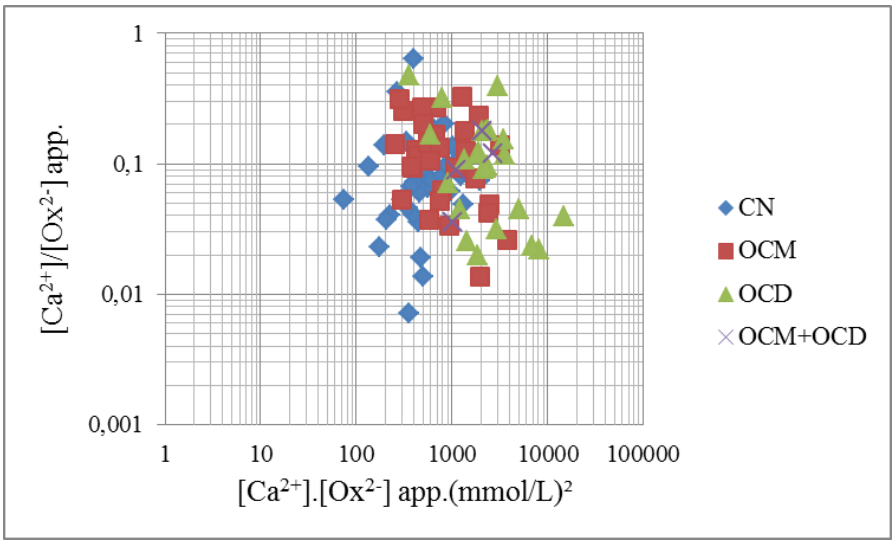


Figure 67: Diagramme des rapports des concentrations apparentes en calcium à celles des oxalates urinaires ([Ca^{2+}] /[Ox^{2-}]) en fonction de leur produit ([Ca^{2+}].[Ox^{2-}]) à Tadla-Azilal

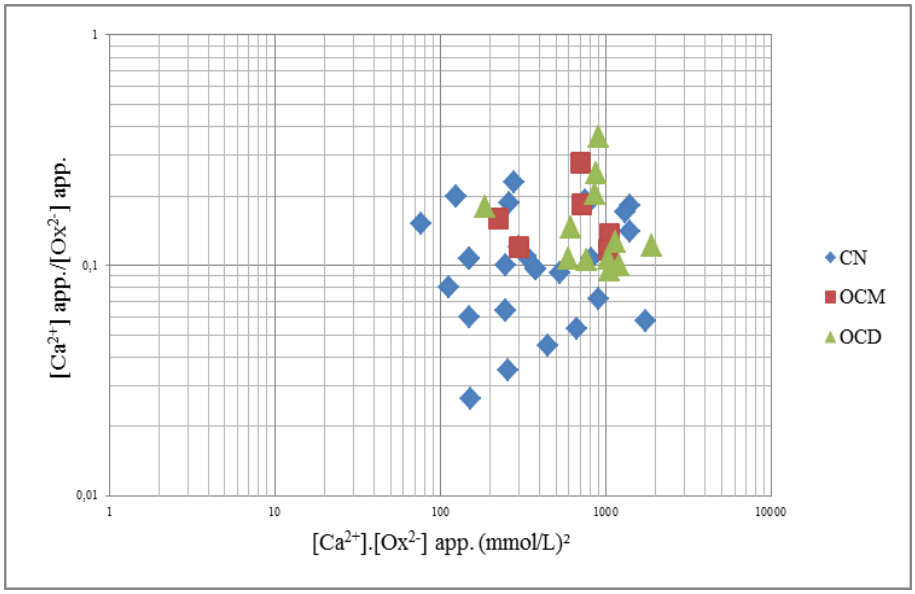


Figure 68: Diagramme des rapports des concentrations apparentes en calcium à celles des oxalates urinaires ([Ca^{2+}] /[Ox^{2-}]) en fonction de leur produit ([Ca^{2+}].[Ox^{2-}]) : série de Maroua

Le diagramme de la figure 69 montre l'effet inhibiteur de certaines substances urinaires sur la cristallisation oxalo-calcique dans les urines des patients lithiasiques et des sujets normaux. Il ressort de ce digramme, Des cristalluries oxalocalciques sont observées pour

certaines valeurs des produits et rapports des concentrations chez les patients lithiasiques, tandis que les urines des sujets sains de mêmes valeurs voir plus élevées, sont exemptes des cristalluries positives. Ce qui confirme une déficience des urines des lithiasiques en substances inhibitrices. Il faut également noter que l'effet d'un inhibiteur est limité ; pour une certaine concentration de promoteurs, les inhibiteurs deviennent inefficaces.

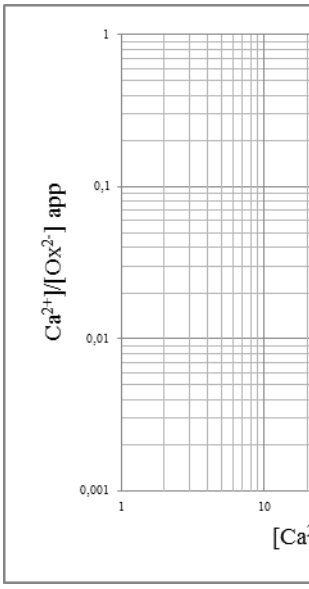


Figure 69: Diagramme des ra
Ox^{2-}]); en bleu : cristalluries
cristallurie positive des patien

Introduction

La littérature rapporte un grand nombre de document présentant les résultats des travaux dédiés à l'urolithiase (épidémiologie, prévalence, étiopathogénie, analyse morpho-constitutionnelle des calculs, cristallogenèse et lithogenèse, traitement et prévention, etc.) à travers le monde entier. Nous confrontons dans ce chapitre les résultats exhaustifs de nos investigations à ceux récemment présentés dans la littérature. Leurs interprétations et discussions seront d'un apport supplémentaire à la compréhension et à la détermination des facteurs de risque de développement de cette pathologie. Les perspectives en vue d'étendre le champ de la recherche sur les lithiases constitueront également un paragraphe clé dans ce chapitre.

4.1. Localisation et expulsabilité des calculs urinaires.

Nous pouvons remarquer que dans la série de Tadla-Azilal explorée, une prédominance de la localisation anatomique des calculs dans les reins par rapport à la vessie. En effet, la localisation anatomique des calculs varie avec le niveau de vie et aussi le taux de prise en charge médicale des patients lithiasiques dans les populations. Dans la région de Tadla-Azilal où les populations ont un niveau de vie moyen, la plupart des calculs sont plus retenus dans les reins après leur formation. Cette observation est en accord avec celle du professeur Daudon et de Djelloul et leurs collaborateurs sur dans les travaux sur l'évolution observée dans les modifications les plus évidentes de la pathologie lithiasique à l'échelle mondiale portant sur la localisation anatomique initiale des calculs, qui est plutôt vésicale au sein des populations de faible niveau socioéconomique et essentiellement rénale pour les populations de niveau socioéconomique moyen ou élevé (Djelloul et al, 2006 ; Daudon M. et al, 2008).

Il est à noter dans la littérature rapporte qu'à partir de 65 ans, la localisation vésicale des calculs est beaucoup plus fréquente, en particulier chez l'homme et au-delà de 80 ans, une forte diminution des expulsions spontanées suggérant fortement l'existence d'un obstacle (Daudon M., 2003a). Ces observations sont similaires dans notre série pour les hommes, mais différentes chez les femmes, pour les quelles les localisations sont indépendantes de l'âge. En effet, chez l'homme, l'hypertrophie prostatique peut survenir à partir de 65 ans, présentant un obstacle s'opposant à l'expulsion des calculs dans un nombre important de cas. L'obstacle que représente la pression urétérale s'expose à l'expulsion des calculs formés dans le rein et ayant migré jusqu'à la vessie où ils seront bloqués. Par ailleurs, la mauvaise vidange vésicale et la stase urinaire qui résulte de l'hypertrophie prostatique favorise une lithogenèse locale (Daudon M., 2003a).

Cependant, cette situation de rétention liée à la prostate n'explique pas toutes les lithiases vésicales du sujet âgé. Chez la femme, il faut évoquer d'autres causes possibles comme, par exemple, un relâchement des fibres musculaires lisses pouvant réduire l'efficacité de la vidange vésicale et favoriser un certain degré de stase. Une autre hypothèse est l'augmentation de la fréquence des infections urinaires basses qui, par la réaction inflammatoire qu'elles entraînent, peuvent rendre plus difficile l'expulsion des calculs (Servais *et al*, 2004 ; Daudon M., 2003a).

Le grand recours à la méthode d'extraction par chirurgie observée dans cette série peut s'expliquer par le cout assez élevé par des méthodes d'extraction des calculs de plus en plus efficaces tels que la lithotritie dont l'accès est plus réservé aux patients dont les familles disposent plus de moyens de financement et de prise en charge.

4.2. Epidémiologie, étiologie et profil chimique des calculs.

Une prédominance masculine avec un ratio homme/femme (H/F) global de 1,25 :1 a été observée dans notre série. Cette prédominance masculine est confirmée par ceux observés dans la plupart des travaux notamment dans la série de 58682 calculs analysés dans 22 centres en Allemagne entre 1977 et 2006 présentée par Knoll et ses collaborateurs où ce ratio était de 2,4:1. Par ailleurs, ils rapportent une évolution de cette prévalence avec un ratio H/F qui est passé de 1.86:1 en 1977 à 2.7:1 en 2006 (Knoll *et al*, 2011). Dans les séries marocaines étudiées par Oussama, El kabbaj, et Charafi, ces ratios sont respectivement de 2,1 :1 ; 2,57 :1 et 2,7 :1. (Oussama A. *et al*, 2000 ; El Kabbaj *et al*, 2000 ; Charafi S. *et al*, 2010). Il est à noter également une variation du ratio H/F qui a tendance à augmenter avec l'âge. En effet, plusieurs auteurs ont relevé un taux de prévalence des maladies lithiasiques plus élevé chez les sujets adultes chez qui, la sédentarité, le surpoids, le vieillissement des cellules ainsi que d'autres maladies telles que le diabète surviennent à des âges assez avancés et deviennent des facteurs promoteurs de la lithogenèse (Daudon *et al*, 2001 ; Knoll *et al*, 2011). Dans notre série, nous avons observé le pic d'âge dans la tranche de 40 à 50 ans pour les deux sexes.

Le profil chimique en constituant majoritaire des calculs dans notre travail est dominé par les oxalates de calcium (61,31%) suivit des phosphates calciques (18,98%), puis des purines (13,14%) et enfin de la struvite (5,97%). Quant aux espèces cristallines, nous avons noté une prédominance de l'oxalate de calcium monohydraté (54,01%°), suivi de la carbapatite (16,79%) et de l'acide urique anhydre (7,3%). Ces profils sont similaires à ceux

des travaux antérieurs (Bennani et al, 2000 ; Djelloul *et al*, 2006 ; Alaya *et al*, 2010 ; Lewandowski *et al*, 2004 ; Yii-Her Chou *et al*, 2007 ; Chien Hsing Lu *et al*, 2000). La distribution des constituants lithogènes est très différente selon la classe d'âges considérée, mais également selon le sexe des patients, la différence entre les sexes persistant tout au long de la vie.

L'interprétation des phases cristallines d'un calcul est modulée l'analyse morphologique plus fine du calcul incluant le sous-type morphologique. Ainsi, l'oxalate de calcium monohydraté (whewellite), phase cristalline majoritaire indépendamment de l'âge et du sexe correspond, soit à des hyperoxaluries intermittentes, essentiellement nutritionnelles ou par défaut de diurèse (hyperoxalurie de concentration), ou traduit des hyperoxaluries absorptives, des pathologies digestives inflammatoires, ou expriment des situations de stase avec confinement anatomiques ou encore correspondent à des hyperoxaluries d'origine génétique (hyperoxalurie primaire) (Sekkoum, K. *et al*, 2011; Daudon M. *et al*, 1999). Les sujets plus âgés présentent une fréquence de calculs d'oxalate de calcium dihydraté (weddellite) moins que chez l'adulte jeune (30 à 40 ans). Ceci peut s'expliquer par des facteurs endogènes, mais aussi nutritionnels : la consommation de produits laitiers, qui est globalement insuffisante, tend à diminuer chez le sujet âgé comparativement à l'adulte jeune, ce qui aggrave le déficit relatif en calcium et réduit encore la calciurie (Daudon M., 2003a). La forte consommation du thé observée chez les populations de Tadla-Azilal augmenterait l'oxalurie par l'hyperproduction d'oxalate. La perte néphronique liée à l'âge, qui diminue la capacité du rein à synthétiser la 1,25 – dihydroxy-vitamine D3. Il s'en suit une moindre absorption du calcium alimentaire et une diminution de la calciurie (Millán F. *et al*, 2011 ; Daudon M., 2003a). De tels contextes ne sont pas favorables à la cristallisation des espèces calcium-dépendant telles que la weddellite et la brushite chez les sujets âgés. Aussi, il faut noter en accord avec les observations de Millán F. et ses collaborateurs, celles de Fatiha Laziri que la composition des calculs est étroitement lié à la variation des habitudes alimentaires et au niveau de vie des patients et la structure cristalline et morphologique des calculs sont indicatives des mécanismes de l'étiopathogénie de l'urolithiase (Millán F. *et al*, 2011 ; Laziri F. *et al*, 2009).

La carbapatite était le deuxième constituant majoritaire dans notre étude avec une fréquence de 16,79%. Sa fréquence était de 5,2% dans la série étudiée par Laziri F. *et al*, 9,04% dans celle de Xizhao Sun et ses collaborateurs, 9,33% dans celle d'Oussama et al. et 17,4% dans la série de El-Kabbaj (El-kabbj *et al*, 2000 ; Oussama et al, 2000 ; Xizhao Sun *et*

al, 2011 ; Laziri F. *et al*, 2007). D'autre part, on note une prévalence féminine des calculs phosphocalciques en général (32,79% contre 8,45%), et en particulier de la carbapatite (23,68% contre 6,58%). Cette prévalence est confirmé par celle de la littérature (El kabbaj et al, 2000 ; Daudon M., lettre n°55). Les calculs phospo-calciques majoritaires en cabapatite peuvent avoir différentes causes, métaboliques ou infectieuses; ceci en fonction du taux de carbonatation et de la présence de la struvite. Les calculs de composition chimique majoritaire en carbapatite sont associés à une lithiase liée à une acidose tubulaire majeure (troubles de l'acidification rénale), distale ou proximale, innée ou acquise (Daudon M., 2003a). Le carbonate-apatite (carbapatite) est le composant principal des calculs formés chez les patients traités par les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (Servais *et al*, 2004). L'existence d'une hypercalciurie associée constitue un facteur lithogène aggravant. L'acétazolamide est largement utilisé dans le traitement du glaucome et pour ses propriétés anticonvulsivantes dans le traitement de l'épilepsie (Kass *et al*, 1989). En tant qu'inhibiteur de l'anhydrase carbonique, l'acétazolamide agit au niveau du tubule proximal, bloquant la réabsorption des bicarbonates parallèlement à l'inhibition de l'excrétion d'ions hydrogène. Il en résulte une acidose intracellulaire qui augmente l'absorption tubulaire des ions citrate ce qui provoque une hypocitraturie. Des inhibiteurs de l'anhydrase carbonique tels que l'acétazolamide et ses analogues, méthazolamide, dorzolamide et diclofénamide sont responsables fréquemment de la formation de lithiases.

Les purines (acides uriques et urates) sont majoritaires à 13,14% des calculs analysés et cette fréquence augmentait avec l'âge dans les deux sexes. Ces observations sont similaires dans les travaux antérieurs qui relèvent une prévalence élevée chez les patients âgés d'environ 60 ans et plus (El Fellah *et al*, 2009 ; Daudon M., 2003a). D'autre part, il faut signaler que la majorité des calculs majoritaires en acide urique étaient mixte en association avec la whewellite. Cette association s'explique par le phénomène de nucléation hétérogène (phénomène d'épitaxie) où l'acide urique sert de noyau autour duquel de développe la couche d'oxalate de calcium (Srinivasan *et al*, 2006).

Plusieurs auteurs mentionnent l'hyperacidité urinaire et l'hyperuricurie comme principaux facteurs favorisant la lithogenèse urique (Pack et al, 2001 ; Srinivasan S. *et al*, 2005). En effet, tout facteur favorisant l'acidité des urines va favoriser la lithiase urique, en particulier la déshydratation qui augmente la réabsorption des bicarbonates au niveau du tube proximal. Plusieurs raisons ont été évoquées pour expliquer l'évolution de la lithiase urique avec l'âge : les sujets âgés ont une altération progressive de leur capacité rénale

d'ammoniogenèse permettant d'éliminer la charge acide endogène (Pack C. *et al*, 2001). Il en résulte qu'une proportion plus importante de protons produits par le métabolisme est éliminée sous forme d'acide titrable par transformation des ions HPO_4^{2-} et en ions $H_2PO_4^-$. Cela s'accompagne d'une baisse du pH urinaire propice à la cristallisation de l'acide urique. La baisse du rapport ammoniurie/acidité titrable est la principale caractéristique des patients qui font des calculs d'acide urique, y compris chez des sujets qui n'ont pas toujours une diminution de leur capacité d'ammoniogenèse rénale (Agarwal *et al*, 1980 ; Pack C. *et al*, 2001). Quant aux calculs uratiques, ils sont associés à des hyperuricuries avec alcalinisation urinaire infectieuse ou thérapeutique. En revanche, les calculs d'urate d'ammonium sont essentiellement provoqués par des pertes de bases digestives par diarrhées infectieuses ou abus de laxatifs dans un contexte de malnutrition et de carence phosphorée (Xizhao Sun *et al*, 2011 ; Daudon M., 2004).

Les calculs de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (PAM) sont majoritaires dans 5,95% des cas et sont plus fréquents chez la femme que chez l'homme comme dans la plupart des travaux antérieurs (Daudon M. *et al*, 2004 ; Fekak *et al*, 2006 ; Zidane *et al*, 2006). La présence de struvite, même non majoritaire, dans un calcul est constamment le témoin d'un processus lithiasique associé à une infection à germes uréasiques. D'un point de vue épidémiologique, ce critère de présence de struvite est plus sensible que le critère de composition majoritaire en struvite (Daudon M. *et al*, 2003b). Malgré la légère prédominance féminine, les lithiases de struvite sont aussi présentes chez l'homme. Chez la femme, on invoque les anomalies du bas de l'appareil urinaire, tandis que chez l'homme, l'hypertrophie prostatique entrainerait une mauvaise vidange vésicale et une stase urinaire propice à la prolifération bactérienne et à la cristallisation lorsqu'une infection est présente (Daudon M. *et al*, 2003b).

4.3. Optimisation des méthodes d'analyse des calculs urinaires

L'analyse morphologique des calculs par stéréomicroscopie sous la loupe binoculaire a pour but de déterminer les caractéristiques structurales (couleur, texture, aspect des cristaux, organisation des couches internes, l'homogénéité, la nucléation) et d'une manière partielle, la composition chimique et cristalline. L'ensemble de ces éléments morphologiques peut être synthétisé sous la forme d'un (ou de plusieurs) types morphologiques (Daudon M., 2007). Cependant, l'étiologie des lithiases réside non seulement dans la connaissance du type morphologique, mais aussi dans la composition chimique et cristalline du calcul et aussi des

faciès des cristaux. La stériomicroscopie à elle seule ne peut être exhaustive pour l'étiologie, d'où elle devrait être couplée à une méthode d'analyse constitutionnelle (Daudon M., lettre 55).

La microscopie optique à polarisation est plus employée l'étude de la cristallurie qui permet grâce à la polarisation de la lumière, de distinguer les faciès, le nombre et le volume des cristaux (Parent, 2008 ; Jungers *et al,* Daudon *et al,* 2005). Cependant, il faut noter que la composition chimique d'un calcul est le reflet de la cristallurie correspondante qui, de par sa genèse, prend naissance de la cristallisation suite à la sursaturation urinaire. En effet, de fortes corrélations ont été notées entre les cristalluries et la composition des calculs d'un même sujet lithiasique (Zohra-Omar *et al,* 1999). Si un cristal urinaire a pu être identifié par le microscope optique à lumière polarisée, sa présence au sein d'un calcul peut également reconnue par cette même technique. De plus, le microscope à lumière polarisée est un matériel d'analyse de routine moins couteux, plus facilement accessible dans les laboratoires d'analyses que les autres appareils tels que le microscope électronique à balayage, le spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier, le diffractomètre des rayons X, etc. Ces hypothèses ont été vérifiées dans le présent travail lorsque nous l'avons expérimenté dans l'analyse des calculs urinaires. Comme le montre les images des figures 32 à 38 du de la page 111 à 114, les cristaux de whewellite, de weddellite, d'acides uriques anhydre et dihydraté, de struvite sont identifiés sans ambiguïté. D'autres parts, ces cristaux ci-dessus cités représentent les plus fréquents des calculs urinaires. Ces observations confirment celles de l'étude morphologique à la loupe binoculaire. Le couplage entre les deux techniques a fournis des résultats plus exhaustifs. Ce qui justifie la valorisation du microscope optique à polarisation dans l'analyse des calculs urinaires comme matériels de routine en premiers diagnostics de leur composition. Toutefois, il faut signaler certains constituants aussi fréquents que ceux cités ci-haut tels les phosphates calciques, les urates et les métabolites des médicaments ne peuvent être identifiés avec assez d'aisance par microscopie optique à polarisation pour leurs formes multivariées et leurs caractères plus ou moins polarisante qui prêtent à confusion. Aussi, certaines espèces cristallines ont plusieurs faciès liés à des étiologies différentes de la maladie, il n'est pas évident reconnaitre par microscopie à polarisation. Et parfois si les espèces cristallines sont identifiées, il est difficile de différentier celles authentiques de celles formées par conversion cristalline (entre la weddellite et la whewellite, l'acide urique anhydre et l'acide urique dihydratyé) liée à l'influence des conditions préanalytiques telles que la

solvatation de l'eau. Ce qui limite alors l'emploi de cette méthode pour l'analyse des calus urinaires.

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique d'analyse à l'échelle nanostructurale des matériaux en général et de biomatériaux en particulier. Elle a été utilisée dans l'analyse des calculs urinaires dans plusieurs travaux notamment dans l'étude des calcifications de la plaque de Randal (Bazin D. *et al,* 2010), l'analyse constitutionnelle des calculs urinaires (Charafi S. *et al,* 2010 ; Bernat Isern Amengual, 2007 ; Alaya, 2004 ; Bazin D. *et al,* 2010). Les cristaux observés par le MEB se présentent en trois dimensions. Tout comme le MOPL, les microcristaux de phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté de forme en « Y », les octaèdres en 3D de la weddellite, les agrégats oviformes de whewellite et les agrégats radiaux de phosphate acide de calcium dihydraté (brushite) sont également reconnus (Bazin D. *et al,* 2007 ; Alaya, 2004). Cependant, les microcristaux de carapatites parfois semblables à ceux des whewellites par le MOLP, se présentent sous une forme particulière (des boules sphériques) au MEB sont reconnus sans ambigüité (Carpentier X. *et al,* 2009). Tout comme le MOLP, le MEB ne permet pas de différencier les faciès d'une même espèce cristalline. Contrairement au MOLP, les conditions préanalytiques du MEB ne nécessitent pas l'utilisation d'un solvant, ce qui permet d'obtenir les espèces cristallines authentiques sans conversion. On remarque donc une complémentarité entre les deux techniques microscopiques. Il faut aussi signaler que la présence des protéines et d'un nouveau non encore décrit tel que les médicaments pose un problème d'identification par le MEB comme par le MOLP. Il faudra alors faire recours une autre méthode tel que spectrométrie de masse ou la spectrophotométrie infrarouge.

La spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (SIR-TF) est présenté dans la plupart des travaux comme méthode de référence d'analyse des calculs urinaires du point de vue de rapidité, simplicité, spécificité et disponibilité (Xizhao *et al,* 2011 ; Wilson *et al,* 2010 ; Mohamed Ali *et al,* 2008 ; Anderson, 2004 ; Daudon M., lettre 55 ; Bazin D. *et al,* 2007). En effet, la SIR-TF est une technique d'analyse qualitative et quantitative. Elle permet grâce au spectre obtenu, de repérer le composé majoritaire par son pic principal, d'évaluer le taux de carbonatation des apatites carbonatés ; véritable élément d'orientation vers l'étiologie des lithiases infectieuses par des germes uréasiques (Daudon M., 2003c). Nous avons pu interpréter certains résultats ambigus des images des microscopies optiques et électroniques grâce aux spectres IR de ces composés. Cependant, la SIR-TF n'est pas une méthode d'analyse structurale, elle ne donne pas d'informations sur la morphologie et le faciès des

cristaux. Et pourtant, la morphologie du calcul permet d'établir une corrélation avec les facteurs de risque lithogène (Millán F. *et al*, 2011). Aussi, faut-il rappeler que certains constituants mêmes minoritaires dans le calcul, sont significatifs de l'étiopathogénie par leur simple présence. C'est le cas de la struvite qui témoigne d'une infection par des germes uréasiques (Daudon M., 2003c). Leurs bandes d'absorption sur le spectre IR peuvent alors être masquées par celles des constituants majoritaires. Ce qui explique les différences observés au niveau de certains résultats microscopiques et spectroscopiques : certains constituants identifiés par le MOLP ou par le MEB sont absents par l'IRTF. Ce qui marque la particularité des avantages et des limites de chaque méthode employé pour l'analyse des calculs urinaires. La SIR-TF devrait de ce fait, être couplée avec une technique microscopique qui permet non seulement de donner la morphologie du calcul, mais aussi de différentier les phases cristallines authentiques de celles converties par les phénomènes de solvatation, ainsi que les différents faciès d'un cristal et de mettre en évidence les constituants se trouvant dans une certaine proportion minoritaire dans les calculs mixtes.

4.4. Rôle des métaux dans la lithogenèse

Certains éléments métalliques se retrouvent incorporés dans les calculs urinaires dans une certaine teneur. Leur rôle en tant que facteur de risque sur la lithogenèse a été discuté dans quelques travaux antérieurs (Bazin *et al*, 2007 ; Bazin *et al*, 2010 ; Moroz *et al*, 2009). Ces éléments peuvent se prêter d'accélérateurs ou d'inhibiteur de la croissance (catalyse) et de modificateur de la morphologie des calculs. De ce fait, Dominique Bazin et ses collaborateurs ont proposé une classification basée sur leur quantité en fonction de l'énergie des photons détectés lors de l'analyse par fluorescence X, mais surtout sur leur origine biologique (Bazin et *al*, 2010). Les premiers les éléments sont ceux qui entrent dans la formule stœchiométrique de la matrice du calcul (calcium pour les calculs d'oxalates ou de phosphates calciques, le soufre pour les calculs de cystines). Les seconds, appelés oligoéléments d'origines très différentes. Il s'agit de : strontium, sélénium, zinc, cuivre, fer. Une troisième famille d'éléments traces est occasionnellement retrouvée, cette fois-ci de manière pathologique (le plomb, le silicium, le mercure, le ruthénium, le cadmium, l'aluminium et le chrome). Enfin, des éléments lourds à visée thérapeutique comme l'iode ou le platine constituent la dernière famille d'éléments présents au sein des calculs rénaux.

Dans notre travail, les teneurs en éléments calcium, fer, cuivre, chrome et zinc ont été déterminées dans dix échantillons de calcul urinaires choisis en fonction de leur composition chimique.

La teneur en élément calcium était la plus élevée dans tous les échantillons indépendamment de leur composition chimique. Ces valeurs étaient comprises entre 5800 et 37 mg/L, la valeur la plus grande correspondant à un calcul d'oxalate de calcium monohydraté pur. Le calcium est connu comme promoteur direct de la cristallisation de la plupart des calculs calciques plus particulièrement de la whewellite et de weddellite car il rentre dans la formule stœchiométrique de la matrice du calcul (Bazin *et al*, 2010). C'est le cas de la whewellite ($CaC_2O_4.H_2O$), la weddellite ($CaC_2O_4.2H_2O$), les apatites ($Ca_{10-x+y}\ M_{x-y}\ (PO_4)_{6-x}\ (OH)_{2+2y-x}\ (CO_3)_x\ A_{x-2y}$, nH_2O ; où M est un autre cation métallique (Mg ou K par exemple), A est un autre anion (Cl ou F)) (Bazin *et al.*, 2007a). Toutefois, sa concentration reste élevée dans les calculs d'acide urique et de struvite dans les quels, il formerait de multiples complexes ou serait en compétition avec le magnésium.

Les éléments fer, aluminium et zinc sont présentés dans les travaux antérieurs comme inhibiteurs de la cristallisation (Anee *et al*, 2004). Le fer est connu jour un rôle dans la fixation et le transport de l'oxygène à travers les vaisseaux sanguins. Sa présence dans les calculs serait dû éventuellement au saignement provoqué par les calculs lors de leur déplacement à travers les voies urinaires, de ce fait des traces d'hémoglobine sont souvent retrouvées à la surface comme à l'intérieur des calculs rénaux (Basin D. *et al*, 2010). Nous avons observé une variation de sa teneur d'un calcul à l'autre. Sa plus grande valeur (6,14mg/L) a été obtenue pour un calcul de struvite (calculs coralliforme), ces valeurs sont relativement élevées dans calculs d'acide urique dont la trame organique contiendrait des cellules sanguines. L'abondance du zinc est fortement liée à celle du magnésium. Le zinc et le cuivre sont deux éléments présents dans de nombreuses métalloprotéines. Par ailleurs le zinc est éliminé par le rein, mais que sa concentration dans l'urine est faible, de l'ordre de 0,1 ppm, alors qu'elle est sensiblement plus élevée dans le parenchyme en moyenne 20-30 ppm (Komaromy-Hiller *et al*, 2000). Les oligoéléments tels que le zinc ne semblaient pas jouer de rôle catalytique dans la genèse d'un calcul et ne peuvent donc être considérés comme des facteurs de risque. Leur présence et leur teneur s'expliquerait simplement par leur présence naturelle dans le corps humain et leur affinité pour les différentes phases chimiques constitutives du calcul qui suivent les règles de Goldschmidt régissant l'insertion d'éléments traces dans une matrice et qui reposent notamment sur des comparaisons entre les rayons

ioniques et leur charge (Bazin *et al*, 2007b). En effet, la charge et le rayon atomique associés au zinc, au magnésium et au calcium sont très proches (R_{Ca}^{2+} *= 99 pm;* R_{Mg}^{2+} *= 66 pm ;* R_{Zn}^{2+} *= 74 pm*). La teneur en zinc dans nos échantillons était liée à celle magnésium et selon que la phase cristalline riche en magnésium. Ainsi, dans les calculs d'oxalate de calcium, nous avons observé que la teneur en zinc était plus faible dans les calculs de whewellite (en moyenne 0,88 mg/L) et plus élevée dans les calculs de phosphate ammiacomagnésien hexahydraté (struvite), (en moyenne 5,24 mg/L). Cette valeur était encore plus élevée dans le cas d'un calcul mixte de whewellite et de struvite (12,78 mg/L). Les deux éléments ont donc des effets antagonistes dans la formation des calculs, en particulier de struvite (promoteur pour le magnésium et inhibiteur pour le zinc). Le cuivre a pour origine, l'incorporation fortuite liée à sa teneur dans le milieu et à sa similitude de charge notamment, car aucune tendance réelle d'affinité avec la teneur des autres éléments n'est observée.

Le chrome, élément trace, était l'élément de plus faible teneur indépendamment de l'échantillon considéré. Sa présence au sein du calcul proviendrait d'une contamination environnementale du calcul suite à la consommation de certains aliments ou de certaines boissons. Il appartient à la famille du plomb, du mercure et du cadmium qui ont un rôle néphrotoxique au niveau cellulaire notamment, l'altération de l'épithélium (Bazin D. *et al*, 2010).

De cette analyse multi-élémentaire, nous pouvons retenir que les rôles joués par les éléments métalliques dans la lithogenèse sont multiples et spécifiques pour chaque type d'élément. Si certains sont promoteurs en rentrant dans les matrices stœchiométriques du calcul, d'autres présents dans une certaine teneur, se seraient substitués à d'autres par simple affinité des charges et de volume ionique, tandis que d'autres s'incorporent par contamination environnemental du calcul lors de son déplacement dans les voies urinaires.

4.5. Contribution de l'étude de la cristallurie et des dosages chimiques à la recherche des paramètres de risque de cristallisation oxalocalcique.

L'importance de l'étude de la cristallurie n'est plus à démontrer : la Surveillance thérapeutique, le dépistage des cristalluries médicamenteuses, la détection du risque clinique de récidive, la détection d'une insuffisance rénale aigue (IRA) d'origine médicamenteuse, la recherche des facteurs de risque lithogène, l'intoxication éthylène glycol et le dépistage maladies génétiques cristallogènes ont pu être reconnus grâce à l'étude de la cristallurie (Daudon M., 1987a). Il faut également signaler le succès qu'ont connus les travaux antérieurs

dans la définition des zones de risque de développement des cristaux urinaires soit par des équations mathématiques empiriques (Brown *et al*, 1994 ; Tiselius *et al*, 1997) ou par l'établissement des digrammes à partir des paramètres de risque lithogène que sont les concentrations des espèces chimiques urinaires (Daudon M. *et al*, 2000). L'approche de l'étude la cristallurie des patients lithiasiques par comparaison à celle des sujets sains permet de mieux différencier les phases cristallines suivant leur étiologie et de donner une interprétation plus juste. La cristallurie peut s'observer en dehors de tout contexte pathologique chez un sujet sans antécédents. Elle traduit simplement le fait que les urines sont très concentrées et sursaturées vis-à-vis d'une espèce cristalline ou d'une autre, sans que cela n'ait la moindre signification clinique. Toutefois, la présence de cristaux particuliers (cystine, dihydroxyadénine, struvite ou urate d'ammonium par exemple), même en absence de signes cliniques, doit orienter vers des processus pathogènes spécifiques (Daudon M., 1987a ; Daudon M., 1987b). C'est dans ce dessein que nos travaux ont été menés sur les deux catégories de sujets.

La consommation de certains aliments, boissons ou simplement le défaut d'apport hydrique, peut provoquer la sursaturation l'urine par certaines substances chimiques ou modifier son pH, aussi bien chez une personne saine que chez des sujets lithiasiques (Mbarki M. *et al*, 2005 ; Kristina *et al*, 2009). Ceci explique l'observation des cristalluries chez les sujets sains. Par ailleurs, les cristaux formés dans les urines sursaturées des sujets sains sont stables et évacués par dilution de l'urine par une simple amélioration d'apport hydrique, tandis que ceux des sujets lithiasiques évoluent dans leur croissance par agglomération et finissent par former des gros agrégats de cristaux les quels, si les conditions de rétention sont réunies, deviendrons ses calculs urinaires (Jie-Yu He *et al*, 2010).

La présence des cristalluries uriques témoigne d'une modification du pH urinaire suite à l'excès de consommation des protéines animales, voir aussi de boissons alcoolisées (Mbarki M, *et al*, 2005 ; Schwile *et al*, 2004). La présence du phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté (la struvite) est le symptôme d'une infection urinaire par des germes uréasiques dans la majorité des cristalluries tout comme des calculs urinaires ((Belhadji *et al*, 2004, Asari *et al*, 2005 ; Daudon *et al*, 2003 ; Alaya A, *et al*, 2010). Cependant, il est rarement observé dans les cristalluries des sujets sains. L'acide oxalique et l'oxalate résulte des métabolismes par formation des savons calciques à la lumière intestinale. Le calcium ainsi immobilisé ne peut plus réagir avec l'oxalate intraluminal pour former de l'oxalate de calcium non

absorbable. Il en résulte alors une hyperabsorption colique d'oxalate qui peut entrainer une hyperoxalurie (Daudon M., 2001).

L'oxalate de calcium dihydraté (OCD) est connu comme l'espèce cristalline des oxalates de calcium majoritaire des urines tandis que l'oxalate de calcium mohydraté (OCM) est l'espèce majoritaire des calculs urinaires (Harris D.C. *et al,* 2009 ; Daudon M., 2001 ; Amrani Hassani M. *et al.,* 2005 ; Mbarki M. *et al,* 2006). Les observations étaient similaires dans nos séries où les fréquences des OCD étaient de 57,86% pour la série de Maroua et 55,19% pour la série de Tadla-Azilal, tandis que ceux des OCM étaient respectivement de 16,43% et 32,19% pour Maroua et Tadla-Azilal. En effet, en milieu aqueux (urine), les cristaux d'oxalate de calcium sont suffisamment hydratés et thermodynamiquement plus stables par fixation de deux molécules d'eau pour donner la forme dihydratée (OCD). Lors des différentes étapes de formation du calcul (agglomération, croissance et rétention), les cristaux d'OCD subissent une conversion cristalline par déshydratation lente par perte d'une molécule d'eau, transformant l'OCD en OCM, forme majoritaire des calculs majoritaires d'oxalates de calcium plus stables dans les calculs. Des cristalluries mixtes d'OCM et d'OCD ; majoritaire en OCD ont été également observées chez certains sujets. L'hypothèse d'une hypercalciurie par hyperabsorption jéjunale du calcium a été formulée et vérifiée par Daudon M. et ses collaborateurs (Daudon M. *et al,* 2001). En effet, l'hyperabsorption jéjunale du calcium, favorisé par l'élévation de la 1,25-$(OH)_2$ vitamine D3, facilite secondairement l'absorption colique de l'oxalate, si bien que les urines peuvent contenir à la fois un excès de calcium et de l'oxalate propice à la formation des calculs majoritaires en oxalate de calcium où sont associées les deux formes cristallines, OCM et OCD. Ceci explique l'observation simultanée des deux formes de cristalluries dans les urines. La forme monohydratée (OCM) thermodynamiquement moins stable, se transforme en OCD. D'où l'observation des cristalluries mixtes, majoritaires en OCD.

Les lithiases urinaires affectent plus les sujets adultes d'âges compris entre 30 et 50 ans (Veena C. *et al,* 2004). La cristallogenèse est la première étape de la lithogenèse. Ces deux phénomènes ont donc des facteurs d'initiation communs qui interviennent dans leurs mécanismes. La sursaturation urinaire intermittente comme continue peut intervenir dans la même tranche d'âge. Dans la série de Maroua, nous avons observé un pic (19/90) dans la tranche d'âge de 31-45 ans. Tandis que dans la série de Tadla-Azilal, le pic observé est de 20/109 pour la même tranche d'âge (31 à 45 ans). Les travaux de Mbarki et ses collaborateurs sur l'étude de la cristallurie des sujets diabétiques (Mbarki M. *et al,* 2005) ont montré des

résultats similaires avec un pic de cristallurie positive (58,2%) entre 40 et 60 ans. Une prédominance féminine des cristalluries a été observée dans la série de Tadla-Azilal (30,9% pour l'homme contre 40,9% pour la femme), tandis qu'à Maroua, les valeurs étaient à égalité pour les deux sexes (45,75%).

Les travaux de Daudon et al en 1987 sur l'étude de la cristallurie oxalo-calciques des sujets lithiasiques (Daudon M *et al*, 1987) ont montré l'influence du produit des concentrations molaires des calciums et oxalates urinaires (pCaOx) et de leur rapport (Ca/Ox) en tant que facteurs de risque de cristallisation des oxalates de calcium. Cependant, vu la non disponibilité de la technique approprié pour le dosage de ces deux espèces (calcium et oxalates) en routine, les techniques simples des dosages volumétriques classiques dont nous avons utilisés nous ont permis d'obtenir des résultats similaires. Nos observations sur des valeurs apparentes d'oxalurie et de cristallurie ont été confirmées par celle de Daudon et al. L'apparition des cristalluries de l'OCD pour des valeurs élevées de concentration en calcium confirme qu'il s'agit d'une espèce calcium-dépendante tandis que l'OCM est une espèce oxalo-dépendant (Laziri F *et al*, 2009 ; Daudon M., 2001 ; Mohamed Ali A *et al*, 2008; Sui-Ping Deng *et al*, 2006 ; Jiaguo Yu, Hua Tang; 2004 ; TaesungJung *et al*, 2005). Cependant vue la complexité du milieu urinaire, les cristaux d'OCD ont été observés pour certaines valeurs de concentrations plus basses par rapport aux OCM. Cette exception justifie la prise en considération de plusieurs facteurs pouvant intervenir dans le développement d'un type de cristal et par suite de la formation du calcul urinaire correspondant.

L'hypothèse de l'existence des inhibiteurs de cristallisation dans les urines peut expliquer la distribution des nuages des points de la figure 69. En effet, ces substances empêchent la précipitation et la cristallisation oxalocalcique. Les inhibiteurs réagissent avec les calciums et / ou avec les oxalates, empêchant ces derniers à se combiner pour former l'oxalate de calcium. L'une des anomalies urinaires chez les lithiasiques est le déficit en ces substances. Pour des valeurs d'oxalurie et / ou de calciurie normales, voir inférieures à la normale, on observe des cristalluries positives par insuffisance d'inhibiteur chez les lithiasiques (Jiaguo Yu, Hua Tang *et al*, 2004 ; Taesung Jung *et al*, 2005 ; Arvaniti E.C., Lioliou M.G. *et al*, 2010 ; Doddametikurke Ramegowda Basavaraj *et al*, 2007). Ce phénomène a été confirmé dans le présent travail où la comparaison des cristalluries des sujets sains à celles des sujets lithiasiques sur le diagramme Ca/Ox = f (pCaOx) de la figure 69 montre la présence des cristaux chez les sujets lithiasiques pour des valeurs de pCaOx et Ca/Ox inférieures à celles des sujets sains dont ces valeurs sont plus élevées et présentent des

cristalluries négatives. Ceci explique l'effet inhibiteur exercé dans les urines des sujets sains et défaillant chez les lithiasiques.

Conclusions générales

L'objectif principal du présent travail était la recherche des paramètres incriminés dans le développement de l'urolithiase. Il y a lieu de constater, en accord avec les travaux antérieurs, que le calcul reste la source irremplaçable des informations relatives à sa formation et son analyse par des techniques physiques appropriées aboutissant à la connaissance de sa composition chimique permet d'accéder à l'étiopathogenie de la lithiase urinaire. Aussi, la cristallogenèse est l'étape déterminant de la lithogenèse au cours de laquelle, les certaines substances cristallisables dans le milieu urinaire commencent à se former. De ce fait, l'étude de la cristallurie est déterminante dans la compréhension des mécanismes qui régissent la phase d'initiation du développement de la formation des calculs.

La composition morpho-constitutionnelle des calculs a été déterminée par des méthodes optiques (SMB, MEB et MOLP), spectroscopique (IRTF) et l'analyse multi-élémentaire par spectrométrie de de masse couplée au plasma inductif (ICP-MS). L'étude la cristallurie a été également effectuée conjointement aux dosages chimiques des calciums et des oxalates urinaires afin d'apprécier leur influence sur la cristallisation oxalocalcique. Au terme de nos investigations, nous sommes parvenus à des résultats assez concluants sur l'étiopathogenie de l'urolithiase :

- La cristallurie, qui reflète globalement le déséquilibre urinaire potentiel entre les solutés promoteurs et inhibiteurs et le pH des urines, est un élément d'information pour évaluer le risque lithogène en cas d'absence et même de présence du calcul et pour apprécier l'efficacité des mesures thérapeutiques engagées. Son étude doit être systématique dans le cadre de la surveillance thérapeutique au long cours des malades atteints de lithiase rénale récidivante. L'analyse des calculs et des cristalluries permet d'identifier les facteurs de risque impliqués dans le processus cristallogène. Elle révèle immédiatement les lithiases de composition particulière justifiant des explorations et des prises en charge spécifiques. Toutefois, l'urine étant un milieu permanemment saturé, les cristaux peuvent y être présents chez les patients lithiasiques comme chez les sujets sains. Cette saturation peut être intermittente suite à la consommation de certains aliments ou de certaines boissons, mais aussi due à une anomalie du métabolisme intestinal ou anatomique (confinement, hypertrophie prostatique, stase) favorisant une hyper-réabsorption ou l'agglomération des substances cristallisables.

- Les lithiases oxalo-calciques de loin les plus fréquentes, sont principalement dus à l'hypercalciurie et l'hyperoxalurie. La détermination régulière de la calciurie et de l'oxalurie

permet une surveillance efficace du risque développement de la lithiase. En présence d'un calcul dans les voies urinaires, ces dosages permettent, comparativement aux observations des cristalluries, de connaitre la composition chimique du calcul ainsi que l'espèce majoritaire ; oxalo-dépendant (whewellite) ou calcium-dépendant (weddellite) pour une meilleure orientation de la technique de son extraction.

- D'une manière globale, l'influence du sexe et de l'âge sur les maladies lithiasiques montre une prédominance masculine. Par ailleurs, il est à noter des particularités pour certaines formes de lithiase telles que les lithiases phosphocalciques, plus observées chez la femme que chez l'homme tandis que, l'inverse est observé dans le cas des lithiases oxalo-calciques. A l'exception des lithiases infectieuses de phosphate ammoniaco-magnésien, de carbapatite à taux de carbonatation élevé et d'urate acide d'ammonium, le développement des lithiases est plus observé chez les adultes d'âge supérieur à 35 ans. Des facteurs anatomiques, hormonaux, le régime alimentaire, la sédentarité et la diminution de l'activité métabolique des cellules avec l'âge seraient à l'origine de ces observations.

- L'influence de facteur géographique a été également relevée. Dans la série de Yagoua au Cameroun, la fréquence des lithiases infectieuses étaient plus élevée par rapport à ceux de Tadla-Azilal au Maroc ; tandis que la fréquence des oxalo-calciques était plus élevée dans la région de Tadla-Azilal. Cette variation résulte des différences observées sur les paramètres propres à chaque région que sont le niveau de vie, les habitudes alimentaires, la prise en charge sanitaire et les facteurs climatiques.

- Les techniques microscopiques (optique et électronique) sont celles appropriées pour l'identification des faciès des cristaux et des constituants minoritaires dans les calculs mixtes. Le couplage entre la stéréomicroscopie binoculaire et la microscopie optique à polarisation permet de décrire la structure externe et interne du calcul et de distinguer les différents faciès cristallins d'un même constituant chimique, en rapport direct avec l'étiologie causale de la lithiase. Ainsi, le microscope optique à lumière polarisée peut être utilisé en routine comme technique d'analyse rapide et moins couteuse des calculs dans les premiers diagnostics de la lithiase urinaire. Le microscope électronique permet de mieux apprécier les espèces cristallines que le microscope optique à polarisation par des images obtenues en 3D mais reste coûteux et moins disponible. Malgré que la spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier n'est pas une technique d'analyse structurale et ne permet pas de différencier les faciès des cristaux, elle reste la technique la plus appropriée pour l'analyse des calculs

urinaires. Les nouveaux corps tels que les médicaments identifiés ne peuvent être reconnus s'ils n'ont pas encore été décrits dans les calculs par une méthode. Vue la spécificité et les limites de chaque technique, elles restent complémentaires dans l'analyse des calculs urinaires et devraient être dans un cadre idéal de disponibilité, utilisées conjointement afin de rendre plus exhaustives les informations sur un calcul donné.

- Si certains éléments se retrouvent par incorporation fortuite ou par contamination environnementale dans le calcul, d'autres en rentrant dans la matrice du solide, sont promoteurs de la cohésion de la formation de ce dernier. C'est le cas du calcium dans les calculs calciques et le magnésium dans les lithiases d'infection à germes uréasiques telles que le phosphate ammoniacomagnésien hexahydraté.

- En somme, les paramètres étiologiques de la lithiase urinaire varient de manière individuelle et géographique, ils ne sauraient être généralisés. Toutefois, la sursaturation des urines par défaut d'apport hydrique ou par des surcharges alimentaires, l'âge adulte, les infections urinaires, les mauvaises habitudes alimentaires, la sédentarité, les anomalies anatomiques et métaboliques, les maladies génétiques héréditaires, les facteurs climatiques et les antécédents familiaux restent les facteurs communs aux lithiases urinaires dans le monde entier. Les conséquences de ces facteurs sont l'hyperoxalurie, l'hypercalciurie et l'hyperuricurie observés comme dominant dans nos séries.

Perspectives

Tous les travaux menés au cours de cette thèse peuvent engendrer d'autres.

L'étude épidémiologique à l'échelle nationale sur des échantillons de taille élevée devrait être poursuivie afin de fournir au ministère de la santé le profil chimique global des calculs et l'étiologie de la lithiase urinaire au Cameroun.

Si les facteurs de risque de formation des calculs urinaires ont été déterminés, la prévention reste une règle thérapeutique efficace dans le développement des lithiases. Cependant, les infections, les antécédents familiaux et les anomalies anatomiques et métaboliques ne sauraient être prévenus pour éviter la formation des calculs. D'autre part, il est connu qu'aucune thérapie efficace de dissolution des calculs n'est mise au point. Lorsqu'un calcul est formé et ne s'expulser spontanément, le recours aux techniques de fragmentation de ces biomatériaux (lithotritie, néphrolithomie) est indiqué. La question de

dissolution des calculs sans recours aux machines de fragmentation constitue un nouvel axe de recherche pertinent.

Le calcul d'oxalate de calcium monohydraté, oxalo-dépendante (whewellite) représente environ 60% des calculs chez l'adulte. Son traitement reste difficile en raison de sa résistance à la lithotritie extracorporelle et de sa récidive fréquente. Les traitements médicamenteux sont rares voire inexistantes. Le "Moringa Oleifera" est une plante ayant de grandes vertus en médecine traditionnelle comme dans la nutrition. Les feuilles, les fruits, les graines, les racines, l'écorce mais aussi les fleurs possèdent chacun des vertus thérapeutiques particulières. Toutes ces utilisations n'ont pas encore été vérifiées par la Science. Une partie de nos futures investigations dédiées à l'étude « in vitro » de l'activité litholytique des parties de cette plante vis-à-vis de la dissolution des calculs urinaires de whewellite seraient avantageuses pour contourner les multiples difficultés rentrées lors de leur traitement par lithotritie extracorporelle.

La différenciation des phases cristallines des cristalluries est importante dans la recherche des causes de la cristallogenèse, voire de la lthogenèse. Nos techniques d'étude de l'influence de la calciurie et de l'oxalurie sur la cristallisation de la whewellite et /ou de la weddellite sont avérées peu précises et limitées du point de vue des techniques de dosage volumétriques chimiques approximatives, ainsi que l'interprétation des résultats à partir des diagrammes dans un repère ramenés en coordonnées logarithmiques. Il serait plus précis et efficace d'appliquer les techniques logarithmiques d'analyses statistiques telles l'analyse en composantes principales (ACP) et les réseaux de neurones pour établir la relation existentielle entre la calciurie, l'oxalurie et la formation des cristalluries d'oxalate de calcium.

La proportion des calculs mixtes est assez grande et leurs spectres infrarouges complexes à interpréter. Les erreurs d'interprétation en vue de la détermination de leur composition chimique par comparaison aux spectres de référence sont récurrentes. Il serait pertinent d'établir une base de données à partir d'un grand nombre de valeurs spectrales (absorbances et nombres d'ondes) des échantillons de calculs et d'appliquer un logiciel (Unscrambler ou SPSS, par exemple) pour tenter de donner la composition chimique. Ce qui serait d'un intérêt capital dans l'interprétation des spectres IR des calculs pour les laboratoires d'analyses médicales et le centres de recherche.

References bibliographiques

- Alaya A., Nouri A., Najjar M. F. Prévalence et composition de la lithiase urinaire dans une population pédiatrique tunisienne ; *Progrès en urologie* (**2009**) **19**, 395-400.
- Alaya A., Nouri A., Najjar M.F. Changes in stone composition according to age and gender in Tunisian children. *Journal of Pediatric Urology* **(2010)**, **6**, 364-371.
- Amar A., Harrache D., Atmani F., Bassou G., Grillon F. *Phytothérapie* **(2010)**, **8**(6), 342-347.
- Amrani Hassani M., Hennequin C., Lacour B., Daudon M.; *Progrès en Urologie* **(2005)** ; **15**(4), 650-655.
- Ancharov AI., Potapov S. S., Moiseenko T. N. et al. Model experiment of in vivo S. R. X-ray diffraction of human kidney stones, *NIM A* (**2007**), **575**: 221-224.
- Anderson Jennifer C. Infrared Microspectroscopic Techniques For The Qualitative Analysis Of Cross-Sectioned Renal Calculi And Embedded Mineralized Deposits. – 134pp. Th. D., Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Miami University, Oxford (**2004**), Ohio.
- Anee T.K., Palanichamy M., Ashoka M., Meenakshi Sundarama N., Narayana Kalkura S. Influence of iron and temperature on the crystallization of calcium phosphates at the physiological pH, *Materials Letters* **(2004)**, **58**, 478– 482.
- Anna Fra ckowiak L., Koz lecki T., Przemys"aw Skibin ski, Wies"aw Gawe", Ewa Zaczyn ska Anna Czarny , Katarzyna Piekarska, Roman Gancarz ; *Journal of Crystal Growth* **(2010)**, **312**, 3525–3532.
- Ansari M.S., Gupta N.P., Hemal A.K., Dogra P.N., Seth A., Aron M., Singh T.P. *Int J Urol.* **(2005)**, **12**(1), 12-16.
- Arvaniti E.C., Liolioua M.G., Paraskevaa C.A., Payatakesa A. C., Østvold T., Koutsoukosa P.G. Calcium oxalate crystallization on concrete heterogeneities; *chemical engineering research and design* (**2010**), **8**, 1455–1460.

- Arvaniti EC, Lioliou MG, Paraskeva CA, Payatakes AC, Ostvold T, Koutsoukos PG. *Chemical engineering research and design* **(2010)**, **8**(8), 1455–1460.
- Ayala P.E. Monohidrato Papilar Y De Cavidad: Estudio Comparativo De Factores Etiologicos. – 142 pp. Th. D. Laboratorio De Investigacion En Litiasis Renal , Instituto Universitario De Investigacion En Ciencias De La Salud (Iunics), Universidad De Las Islas Baleares , , Palma De Mallorca (**2004**).
- Baggio B., Gambaro G., Oliva O., Fav Aro S., Borsatti A. Calcium oxalate nephrolithiasis: an easy way to detect an imbalance between promoting and inhibitoring factors, *Clin. Chim. Acta.*,(**1982**), **124**: 149-155.
- Barbey F., Cachat F., Halabi G., Jichlinski P., Daudon M. Lithiases d'infection, *Rev Med Suisse Romande*(**2004**), **124**: 465-9.
- Bazin D., Carpentier X., Brocheriou I, Dorfmuller P., Aubert S., Chappard C., Thiaudière D., Reguer S., Waychunas G, Jungers P., Daudon M. Revisiting the localisation of Zn^{2+} cations sorbed on pathological apatite calcifications made through X-ray absorption spectroscopy, *Biochimie* (**2009**), **91**, 1294–1300.
- Bazin D., Carpentier X., Traxer O., Thiaudière D., Somogyi A., Reguer S., Waychunas G., Jungers P. and Daudon M. Very first tests on SOLEIL regarding the Zn environment in pathological calcifications made of apatite determined by X-ray absorption spectroscopy. *J. of Synchrotron Radiation* (**2008**), **15**, 506-509.
- Bazin D., Chevallier P., Matzen G., Jungers P., Daudon M. Heavy elements in urinary stones. *Urological Research* (**2007**), **35**, 179-184.
- Bazin D., Daudon M. Nouvelles Méthodes D'étude Des Calculs Et Plaques De Randall, Actualités Néphrologiques Jean Hamburger Hôpital Necker 2010, Journées 26-27-28 Avril **2010** : Maison de la Chimie, *Médecine – Sciences Flammarion ISBN : 978 – 2 – 257 – 20409 – 7.*
- Bazin D., Daudon M., André G., Cousson A., Matzen G., Veron E., Mangenot S., Defrutos M. Les interfaces au cœur d'un problème de santé majeur : la lithiase; *P -BAZ01.*
- Bazin D., Daudon M., Carpentier X., Traxer O., Mazouyes A., Mangenot S., Defrutos M., Chevallier P., Rouzière S., Foy E., Albouy P.A., André G., Combes C., Cousson A., Matzen G., Veron E., Lebail A., Thiaudière D., Somogyi A., Reguer S. La physique des

biomatériaux & son implication médicale : Application à la lithiase, 15èmes Journées de la diffusion neutronique, *Rencontre Rossat-Migno, Maubuisson*, 10 - 16 Mai **2007**.

- Bazin D., Daudon M., Chevallie P., Rouziere S., Elkaim E., Thiaudier D., Fayard B., Foy E., Albouy P.A., André G., Matzen G., Veron E. Les techniques de rayonnement synchrotron au service de la caractérisation d'objets biologiques : un exemple d'application, les calculs rénaux, *Ann Biol Clin* (**2006**), **64** (2) : 125-39.

- Bazin D., Daudon M., Chevallier P., Rouzière S., Elkaim E., Thiaudière D., Fayard B., Foy E., Albouy P. A., Gilles A., Cousson A., Guy Matzen, Veron E. Techniques de demain, Un rayon de soleil pour les calculs, *Plein Sud, Spécial Recherche*, **2006/2007**.

- Belhadji Amel, Kacem Brahim, Kaid-Omar, Daudon M. et Addou Ahmed. Etude Des Relations Entre Infection Urinaire Et Lithiase Rénale Dans l'Ouest Algérien; *eurobiologiste* (**2004**)**, 269**.

- Bellot-Gurlet L. *Thèse de Doctorat* (**1998**). Caractérisation par analyse élémentaire (PIXE et ICP-MS/-AES) d'un verre naturel : l'obsidienne, Application à l'étude de provenance d'objets archéologiques, Groupe de Géophysique Nucléaire UPRES-A 5025 du CNRS, Université Joseph Fourier, Institut Dolomieu, 15 rue Maurice Gignoux, 38031 Grenoble.

- Bennami S., Debbagh A., Oussama A., El Mrimi M., Benjeloun S. spectrphotométrie infrarouge et lithiase urinaire. A propos de 80 cas. *Ann Urol* **(2000)**, **34**, 376 – 383.

- Bernat Isern Amengual. Estudios sobre factores cinéticos implicados en la litiasis renal oxalocálcica: nucleación heterogénea e inhibidores de la cristalización. – 186 pp. Th. D. Laboratori d'Investigació en Litiasi Renal, Departament de Química, Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut, Universitat de les Illes Balears (**2007**).

- Boistelle R. Concepts de la cristallisation en solution. *Actual Nephrol Necker Hosp* (**1985**), **15**: 159—202.

- Bon D., Dore B., Irani J., And Marroncle M., Aubert J. Radiographic prognostic criteria for extracorporeal shock-wave lithotripsy: a study of 485 patients; *Urology* (**1996**), **48**, 556-560.

- Brown CM., Ackermann DK., Purich DL. Equil 93: a tool for experimental and clinical urolithiasis. *Urol Res* **(1994)**, **22**, 119.

- Carpentier X., Daudon M., Traxer O., Jungers P., Mazouyes A., Matzen G., Véron E., and Bazin D. Relationships Between Carbonation Rate of Carbapatite and Morphologic Characteristics of Calcium Phosphate Stones and Etiology. *UROLOGY* **(2009)**, **73**, 968–975.

- Charafi S., Mbarki M., Costa-Bauza A., Prieto Rafael M., Oussama A., Grases F. A Comparative Study of Two Renal Stone Analysis Methods, *Int J Nephrol Urol* **(2010)**, **2**(3), 469-475.

- Chien Hsing Lu, Hsueh Fu Lu, Wen – Chi Chen, Tracy Lee, Hsi Chin Wo. Infrared spectroscopic analysis of urinary trace stones. *Mid Taiwan J Med* **(2000)**, **5**, 73-8.

- Conort P., Doré B., Saussine C. et les membres du CLAFU. Prise en charge des calculs rénaux et urétéraux de l'adulte : recommandations ; *Prog Urol* **(2004), 14**(6) : 1096-1102.

- Curhan GC. Dietary calcium, dietary protein, and kidney stone formation, *Miner Electrolyte Metab* (**1997**), **23**: 261-4.

- Dao N. Q., Daudon M. Infrared and Raman spectra of calculi. *Paris : Elsevier* (**1997**).

- Daudon M. cristallurie, Aspects pratuques et interprétation, *Feuillets de biologie*, (**1987**), vol. **XXVIII**, N° 157.

- Daudon M, Brahim M, Nguyen HV, Réveillaud RJ, Jungers P. Intérêt de différencier les phases cristallines de l'oxalate de calcium dans les urines des sujets lithiasiques oxalo-calciques. *Act. Pharm. Biol. Clin.* **(1987)**, **4**, 461-464.

- Daudon M. Approche de la néphrolithiase par l'analyse du calcul. *Med Hyg* (**1995**), **53**: 565-73.

- Daudon M. Analyse et classification des calculs. contribution à l'étiologie de la maladie lithiasique, *Rev Med Suisse Romande* (**2004b**), **124** : 445-53.

- Daudon M. Comment analyser un calcul et comment interpréter le résultat, *Eurobiologiste* (**1993**), **27** : 35-46.

- Daudon M. Comment utiliser les résultats de l'analyse morphologique et infrarouge des caculs en pratique clinique, *feuillets de biologie* (**2003**); vol. **44**- n° 254.

- Daudon M. Cristallurie aspects pratiques et interprétation, Première partie : aspects pratiques. *Feuillets de Biologie* (**1987a**), **28**(155), 25-40.
- Daudon M. Cristallurie : Aspects pratiques et interprétation. I. Aspects pratiques. *Feuillets de Biologie* (**1987b**), **28**(155), 25-40.
- Daudon M. Cristallurie. Aspects pratiques et interprétation. Il. Interprétation. *Feuillets de Biologie* **(1987b)**, **28**(157), 41-47.
- Daudon M. Lithiase urinaire, CERBA ; *Lettre 55.*
- Daudon M**.** Pourquoi et Comment Analyser un Calcul Urinaire ? ; *Avis d'expert* (**2007**)**, 4**.
- Daudon M. ; Evolution de la composition et de la localisation des calculs chez le sujet âgé. *Feuillets de Biologie* **(2003a)**, **44**(251), 51-54.
- Daudon M., Bader C. A., Jungers P. Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology, Scan Microsc (**1993**), **7**: 1081-1106.
- Daudon M., Bounxouei B., Santa Cruz F., Leite Da Silva S., Diouf B., Angwafoo Iii Fru F., Talati J., Desrez G. Composition Des Calculs Observés Aujourd'hui Dans Les Pays Non industrialisés, *Progrès en Urologie* **(2004)**, **14,** 1151-1161.
- Daudon M., Brahim M., Nguyen H.V., Réveillaud R.J., Jungers P. *Act. Pharm. Biol. Clin.* **(1987), 4**, 461-464.
- Daudon M., Caractéristiques biologiques et signification clinique de la cristallurie**,** Laboratoire CRISTAL, Centre de Recherches et d'Informations Scientifiques et Techniques Appliquées aux Lithiases, Service de Biochimie A, Groupe Hospitalier Necker-Enfants Malades- France **(2005)**.
- Daudon M., Cohen-Solal F. and Lacour B. Apport de la morphologie des calculs au diagnostic étiologique des lithiases urinaires, *feuillets de biologie*, (**2003)**, vol. **44**- n° 254.
- Daudon M., Cohen-Solal F., Jungers P. Mécanismes de la lithogenèse et de la cristallurie, *Biologie & Santé* (**2000**), vol. **1**, n° 1.

- Daudon M., Cohen-Solal F., Lacour B. Apport de la morphologie des calculs au diagnostic étiologique des lithiases urinaires. *Feuillets de Biologie* **(2004)**, **45**(260), 51-57.
- Daudon M., Cohen-Solal F., Lacour B., Jungers P. *Progrès en Urologie* **(2003a)**, **13**, 1320-1329.
- Daudon M., Cohen-Solal., Lacour B., Jungers P. Lithiase et anomalies des voies urinaires : la composition des calculs est-elle indépendante de l'anomalie anatomique ?, *Progrès en Urologie* **(2003b)**, **13**, 1320-1329.
- Daudon M., Comment utiliser les résultats de l'analyse morphologique et infrarouge des calculs en pratique Clinique? *Feuillets de Biologie* **(2003c)**, **44**, 254.
- Daudon M., Donsimoni R. Sex and age-related composition of 10 617 calculi analyzed by infrared spectroscopy. *Urol Res* (**1995a**), **23**: 319-26.
- Daudon M., Estépa M. Urinary stones in HIV-1-positive patients treated with indinavir, *Lancet* (**1997**), **349**: 1294-5.
- Daudon M., et Doré B. Cristallographie des calculs urinaires. Aspects néphrologiques et urologiques. *Encycl Méd Chir* (Elsevier, Paris), *Néphrologie-Urologie* (**1999b**), 18-104-A-25, 17 p.
- Daudon M., Hennequin C., Bader C., Jungers P., Lacour B., Druecke T. Inhibitors of crystallization, *Adv Nephrol Necker Hosp* (**1995b**),**24**: 167—216.
- Daudon M., Hennequin C., Boujelben G., Lacour B., Jungers P. Serial crystalluria determination and the risk of recurrence in calcium stones formers; *Kidney International* **(2005)**, **67**, 1934-1943.
- Daudon M., Jungers P. Diabète et calculs, *Feuillets de Biologie* **(2001)**, **42** : 239.
- Daudon M., Jungers P., Bazin D. Peculiar morphology of stones in primary hyperoxaluria, *N Engl J Med* (**2008a**), **359**: 100.
- Daudon M., Knebelmann B. Lithiase Urinaire ; *La Revue Du Praticien* (**2011**).Vol. **61**.
- Daudon M., Traxerb O., Lechevallierc E., Saussine. Épidémiologie des lithiases urinaires ; *Progrès en urologie* (**2008**) **18**, 802-814.

- Daudon M., Traxer O., Lechevallier E. et Saussine C. Épidémiologie des lithiases urinaires, *Progrès en urologie* (**2008a**),**18** : 802-814.
- Daudon M. *Biologie et Santé* **(2001)**, **1**(2).
- Daudon M. Épidémiologie actuelle de la lithiase rénale en France ; *Annales d'Urologie* (**2005**) 349, 209-231.
- Djelloul Z., Djelloul A., Bedjaoui A., Kaid-Omar Z., Attar A., Daudon M., Addou A. Lithiase urinaire dans l'Ouest algérien : étude de la composition de 1354vcalculs urinaires en relation avec leur localisation anatomique, l'âge et le sexe des patients. *Progrès en Urologie* **(2006)**, **16**, 328-335.
- Doddametikurke Ramegowda B., Chandra Shekhar B., Anthony J. Browning, Jon J. C. The Role of Urinary Kidney Stone Inhibitors and Promoters in the Pathogenesis of Calcium Containing Renal Stones, *eau-ebu*, (**2007**), **5**: 126–136.
- Doré B., Techniques et indications de la lithotritie extracorporelle (LEC) en urologie, *Annales d'urologie* **(2005)**, 39 :137–158.
- Ehud G., Lingeman James E., Evan Andrew P. Pathogenesis of renal calculi, *Turkish Journal of Urology* (**2010**), **36**(2):190-199.
- El Fellah H., Iken A., El Sayegh H., El Alj H., Nouini Y., Lachkar A., Benslimane L., Faik M. Aspects Epidemiologiques de la Lithiase Urique : Influence de l'âge, du Sexe et du Diabete, *J Maroc Urol* **(2009)**, **15**, 15-21.
- EL-KABBAJ S., MEIOUET F., EL AMRANI A. Analyse des calculs urinaires par spectrophotométrie infrarouge à propos de 218 cas au Maroc, *Biologie & Santé* (**2000**), vol. **1**, n°1.
- Fatemeh Shirazi, Farangis Shahpourian, Alice Khachian, Fatemeh Hosseini, Anahita Houshiar rad, Shiva Heidari, Mahnaz Sanjari. Personal Characteristics and Urinary Stones; *Hong Kong Journal of Nephrology* (**2009**), **11**(1): 14-19.
- Fekak H., Sahnoun A., Rabii R., El Frougui Y., Joual A., Debbagh A., Bennani S., Oussama A., Meziane F. La Lithiase Urinaire : Etude Spectrophotometrique Infrarouge (A Propos De 80 Cas), *J Maroc Urol* **(2006)**, **1**, 17-20.

- Felix Grases, Pilar Sanchis, Bernat Isern, Joan Perello and Antonia Cost-Bauza. Uric acid as inducer of calcium oxalate crystal development. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology* (**2007**), **41**, 26-31.

- Galaup J.P., Spectroscopie Raman (Programme PREPA, Mastère : Optique et Photonique, Lasers et Applications, Universidad de Antioquia Medellin (Colombia), Avril (**2006**).

- Girija E.K., Narayana Kalkoura S., Sivaraman P.B. and Yokogawa Y. Mineralogical composition of urinary calculi from southern India; *Journal of scientific and industrial research* (**2007**), **66**, 632-639.
- Goldschmidt VM. In Geochemistry, *Oxford University Press*, London, **1954.**

- Graf J. D. et Féraille E. Importance de l'analyse du calcul dans l'exploration de la lithiase rénale, *Revue Médicale Suisse Numéro* : 2289.

- Grases F., Costa-Bauzá A., Ramisa M., Montesinos V. and Conte A. Simple classification of renal calculi closely related to their micromorphology and etiology, *Clinica Chimica Acta*, (**2002**), **322**: 29-36.

- Griffith D. P., Osborne C. A., Infection (urease) stones, *Miner Electrolyte Metab* (**1987**), **13**: 278.
- Harris DC. Exploring Chemical Analysis, 4th Edition: Ch. 6, 13, W.H. Freeman and Company: New York, NY, **2009**.

- Hess B. Wädenswil, Nephrolithiasis. *Schweiz Med Forum* (**2001**), 1: 1119-27, 'Nierensteinbildung'.

- Hüsnü Tokgöz, Volkan Hanc Özlem Türksoy, Bülent Erol, Bülent Akduman, Necmettin Aydin Mungan; Pain Perception During Shock Wave Lithotripsy: Does It Correlate With Patient and Stone Characteristics?, *J Chin Med Assoc* **(2010)** , Vol. **73** , No 9.

- Jennifer Anderson C. Infrared Microspectroscopic Techniques For The Qualitative Analysis Of Cross-Sectioned Renal Calculi And Embedded Mineralized Deposits. – 134pp. *Th.D.* Department Of Chemistry And Biochemistry, Faculty Of Miami University, Miami University, Oxford, Ohio **(2004)**.

- Jhaumeer-Laulloo S., Subratty A. H. Analysis Of Urinary Calculi In Mauritius; *Science And Technology - Research Journal* (**1999)**, Vol. **3** : 87-93.

- Jiaguo Yu, Hua Tang, Bei Cheng, and Xiujian Zhao. *Journal of Solid State Chemistry* **(2004)**, **177**, 3368–3374.
- Jie-Yu He, Jian-Ming Ouyang, Ru-E Yan. Agglomeration of urinary nanocrystallites: Key factor to formation of urinary stones. *Materials Science and Engineering: C.* **(2010)**, **30**(6), 878-885.

- Juana Bellanato, José-Luis Rodríguez-Miñón Cifuentes, Esperanza Salvador, and José-Antonio Medina. Urates in uric acid renal calculi. *International Journal of Urology* (**2009**) **16**, 318–322.

- Jungers P., Cathala N., Dussol B., Daudon M. Traitement médical de la lithiase calcique primitive, *Prog Urol* (**1999a**), **9**:38-42.

- Jungers P., Cathala N., Lacour B., Daudon M. Conduite de l'enquête étiologique de la lithiase urinaire. *Prog Urol* (**1999b**), **9**:17-22.

- Jungers P., Daudon M. Corrélations entre apports protidique et sodé et calciurie chez les lithiasiques calciques, *Néphrologie* (**1993**), **14** : 287-90.

- Jungers P., Daudon M. la lithiase urinaire: de la préhistoir au 21è siecle, *Biarritz* (**2008**).

- Jungers P., Daudon M. Renal Stone Disease. Crystallization process, pathophysiology, metabolic disorders and prevention, Paris, Elsevier, **(1997**), pp. 143-144.

- Jungers P., Daudon M., Conort P. Lithiase rénale : diagnostic et traitement. *Flammarion Médecine Science* **(1999)**.

- Jungers P., Joly D., Blanchard A., Courbebaisse M., Knebelmann B., Daudon M. Lithiases rénales héréditaires monogéniques : récents acquis diagnostiques et thérapeutiques, *Néphrol Thér* **(2008)**, **4**: 231-55.

- Kaid-Omar Zohra, Daudon M., Attar Ahmed, Semmoud Ahmed, Lacour Bernard, Addou. Corrélations Entre Cristalluries et Composition des Calculs; *Progrès en Urologie* (**1999**), **9**, 633-641.

- Karger, prevention of recurrence. Basel: Powder diffraction, International centre for diffraction data, 12 campus Blvd, Newton square, PA 19073-3273, USA, (**1997**).
- Kass M. A., Kolker A. E., Gordon M., Goldberg I., Gieser D.K., Krupin T. Acetazolamide and urolithiasis. *Ophthalmology* **(1981)**, **88**, 261–270.
- Knoll T., Schubert Anne B. , Fahlenkamp D, Leusmann Dietrich B., Wendt-Nordahl G., Gernot Schubert. Urolithiasis Through the Ages: Data on More Than 200,000 Urinary Stone Analyses, *The Journal of Urology* **(2011)**, **185**(4), 1304-1311.
- Kok D. J., Papapoulos S. E., Bijvoet O. L. Crystal agglomeration is a major element in calcium oxalate urinary stone formation, *Kidney Int* (**1990**), **37**: 51.
- Komaromy-Hiller G., Owen Ash K., Costa R., Howerton K. Comparison of representative ranges based on U.S. patient population and literature reference intervals for urinary trace elements; *Clin Chim Acta* **(2000)**, **296**, 71-90.
- Kristina Penniston L., and Stephen Nakada Y. *Urology* **(2009)**, **73**(3).
- Krzysztof Safranow, Zygmunt Macho, Simultaneous determination of 16 purine derivatives in urinary calculi by gradient reversed-phase high-performance liquid chromatography with UV detection, *Journal of Chromatography B*, (**2005**), **819**: 229–235.
- Laziri F, Rhazi Filali F, Oussama A, Soulaymani A, Qarro A, Lezrek M. Facteurs impliques dans l'epidemiologie des Calculs Urinaires Marocains. *J Maroc Urol* **(2009)**, **19** : 0.
- Laziri F., Rhazi Filali F., Amechrouq A., Bendifi H. Exploration des calculs urinaires collectés à Meknès par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier, *Phys. Chem. News* (**2007**), **34**, 79-84.
- Laziri Fatiha, Rhazi Filali Fouzia, Amechrouq Ali and Soulaymani Abdelmajid. Correlations Between the Composition of Moroccan Urinary Stones and the Risk Factors (Food Habit). *Pakistan Journal of Nutrition* **(2009)**, **8**(7), 977-982.
- Leonetti F, Dussol B. Dietary and urinary risk factors for stones in idiopathic calcium stone formers compared with healthy subjects, *Nephrol Dial Transplant* (**1998**), **13**: 617-22.

- Lewandowski S., Rodgers Allen L., Idiopathic calcium oxalate urolithiasis: risk factors and conservative treatment, *Clinica Chimica Acta* **(2004), 345**, 17–34.

- Loader. Basic Laser Raman Spectroscopy, *Heyden & Sons* (**1970**).

- Ludovic BELLOT-GURLET. Caractérisation par analyse élémentaire (PIXE et ICP-MS/-AES) d'un verre naturel : l'obsidienne : Application à l'étude de provenance d'objets archéologiques. – 298 pp. Th. D : Physique : Université Joseph Fourier Institut Dolomieu, 15 rue Maurice Gignoux ; 38031 Grenoble (**1998**).

- Maurice-Estepa L., Levillain P., Lacour B., Daudon M. Crystalline phase differentiation in urinary calcium phosphate and magnesium phosphate calculi, *Scand J Urol Nephrol* (**1999**), **33**: 299-305.

- Maxime ROBERT, Exploration métabolique de la lithiase oxalo-calcique urinaire. Les indicateurs du risque lithogène : Modalités, applications et perspectives, *Progrès en Urologie* (**1996**), **6** : 44-51.

- Mayo Michael E. Interaction of laser radiation with urinary calculi, *PhD Thesis* (**2009**), Cranfield University, Cranfield Defence And Security, Department Of Applied Science, Security And Resilience.

- Mbarki M, Oussama A, Elbouadili A, Semmoud A, Berkani M, Touhami M, Jabrane A J. Study Of Spontaneous Crystalluria on A Series of Patients in the Tadla Azilal Moroccan Area. *Arch. Esp. Urol.* **(2006)**, **59**(6), 653-659.

- Mbarki M, Jabrane J, Oussama A, Daudon M. Etude de la cristallurie des sujets diabétiques. *Progrès en Urologie* **(2005)**, **15**, 420-426.

- Meria P. LITHIASE URINAIRE, conférence du 13 mars 2008, Hôpital Saint-Louis, 1, avenue Claude-Vellefaux, 75475 Paris.

- Millán F., Graciab S., Sánchez-Martína F.M., Angerria O., Rousauda F., Villavicencio H. A new approach to urinary stone analysis according to the combination of the components: experience with 7,949 cases. *Actas Urológicas Españolas* (English Edition) (**2011)**, **35**(3), 138–143.

- Milliner D. S., Eickholt J. T., Bergstralh E. J, Wilson D. M., Smith L. H. Results of long-term treatment with orthophosphate and pyridoxine in patients with primary hyperoxaluria, *N Engl J Med* (**1994**), **331**: 1553-8.

- Mohamed Ali A, Arunai Nambi Raj N, Kalainathan S, Palanichamy P. Microhardness and acoustic behavior of calcium oxalate monohydrate urinary stone. *Materials Letters* **(2008)**, **62**, 2351–2354.

- Moroz T. N., Palchik N. A., Dar'in A. V. Micro-elemental and mineral compositions of pathogenic biomineral concrements: SRXFA, X-ray powder diffraction and vibrational spectroscopy data, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A* (**2009**), **6031**: 41-143.

- Naseem Aslam Channa, Allah Bux Ghangro, Ali Muhammad Soomro and Lubna Noorani. Analysis Of Kidney Stones By Ftir Spectroscopy. *JLUMHS MAY - AUGUST* **2007.**

- Otnes B. Correlation between causes and composition of urinary stones, *Scand J Urol Nephrol.* (**1983**), **17**(1) : 93-8.

- Oussama A., Kzaiber F., Mernari Bouchaib, Hilmi A, Semmoud A., Daudon M. Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans le Moyen Atlas marocain par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier, *Progrès en Urologie* **(2000)**, **10**, 404 – 410.

- Pak C. Y. C. Kidney Stones; *Lancet* (**1998**), **351,** 1797–1801.

- Pakc Y. C., Sakhaee K., Peterson R. D. Biochemical profile of idiopathic uric acid nephrolithiasis, *Kidney Int.* (**2001**), **60**: 757.

- Rieu P., Lithiases d'infection, *Ann Urol* (**2005**), 3**9**:16-29.

- Ryan Sours E. and Jennifer Swift A. The Relationship Between Uric Acid Crystals And Kidney Stone Disease, *American Crystallographic Association, ACA Transactions* **(2004)**, **39**, 83-89.

- Samira Charafi, Mohamed Mbarki, Antonia Costa-Bauza, Rafael M. Prieto, Abdelkhalek Oussama, Felix Grases, A Comparative Study of Two Renal Stone Analysis Methods, Int *J Nephrol Urol*, (**2010**), **2** (3): 469-475.

- Schwille P.O., Schmiedl A., Wipplinger J. *Eur J Med Res.* **(2009)**, 14(9) 378-92.
- Sekkoum, K. et al. FTIR spectroscopic study of human urinary stones fromEl Bayadh district (Algeria). *Arabian Journal of Chemistry* **(2011)**, doi:10.1016/j.arabjc.2011.10.010
- Sekkoum, K. et al., FTIR spectroscopic study of human urinary stones from El Bayadh district (Algeria). *Arabian Journal of Chemistry* (2011), doi:10.1016/j.arabjc.2011.10.010
- Selvaraju R., Thiruppathi G., Raja A. FT-IR spectral studies on certain human urinary stones in the patients of rural area; *Spectrochimica Acta Part A 93* (**2012**) 260– 265.
- Servais A., Daudon M., Knebelman B. Lithiases médicamenteuses, Drug-induced renal calculi; *Annales d'urologie – EMC Urologie* **(2004)**, 40,57–68.
- Simmonds H A. 2,8-dihydroxyadenine lithiasis, *Clin Chim Acta* (**1986**), **160**(8) : 103.
- Srinivasan S., Kalaiselvi P., Sakthivel R., Pragasam V., Muthu V., Varalakshmi P. Uric acid: an abettor or protector in calcium oxalate urolithiasis? Biochemical study in stone formers; *Clinica Chimica Acta* **(2005)**, **353**, 45–51.
- Srinivasan S., Kalaiselvi P., Varalakshmi P. Epitaxial deposition of calcium oxalate on uric acid rich stone matrix is induced by a 29 kDa protein. *Clinica Chimica Acta* **(2006)**, **364**, 267 – 274.
- Stevenson A., Rutgers C. Nutrition : *Encyclopédie de la Clinique Canine*, pp 301-315.
- Straub M et al, Prevention of the Nephrolithiasis, *Urology (A)* (**2004**), **43**: 440-449.
- Sui-Ping Deng, Hui Zheng, Jian-Ming Ouyang. *Materials Science and Engineering C* **(2006)**, **26**, 683 – 687.
- TaesungJung, Woo-Sik Kim, ChangKyun Choi. *Journal of Crystal Growth* **(2005), 279**, 154–162.
- Thomas Knoll. Epidemiology, Pathogenesis, and Pathophysiology of Urolithiasis, *European Urology Suppl Ements* (**2010**), **9**: 802-806.
- Tiselius HG. Risk formulas in calcium oxalate urolithiasis. *World J Urol* **(1997)**, **15**, 176-185.

- Traxer O., Saussine C., Lechevallier E., Rapport sur la lithiase rénale, *Prog Urol* (**2008**), **18** : 801-1029.

- Tuma J., Hess B. Néphrolithiase: Epidémiologie, physiopathologie, colique néphrétique, imagerie diagnostique ***;*** *Forum Med Suisse* **(2001), 41**.

- Veena C, Barnet E, John Allegra R, Dennis G. *American Journal Of Emergency Medicine* **(2004)**, **22**(7).

- Veena C., Barnet E., John Allegra R., And Dennis G., Effect Of Season, Age, And Gender On Renal Colic Incidence, *American Journal Of Emergency Medicine* (**2004**), Vol. **22**, 7.
- Vitoon Prasongwatana, Sombat Bovornpadungkitti, Ekkarin Chotikawanich MD, Kachit Pachitrat , Sunthon Suwanatrai, Pote Sriboonlue. Chemical Components of Urinary Stones According to Age and Sex of Adult Patients. *J Med Assoc Thai* **(2008)**, **91**(10).

- Wilson E. V., Junaid Bushirib M., Vaidyan V. K. Characterization and FTIR spectral studies of human urinary stones from Southern India, *Spectrochimica Acta Part A* (**2010**), **774** : 42-445.
- Xavier Parent. La cristallurie en pratique quotidienne, service de biochimie, *CH Colmar – EPU Lille* - 26 Novembre **(2008)**.

- Xiao-Liang Pan, Zheng-Shun Wen, Xiao-Ting Zou, En-Ku Zhou, Huan-Qi Kou, Zi-Rong Xu,Wen-Ju Zhang. Chemical composition and microstructure of uroliths associated with the feeding of high-level cottonseed meal diet to sheep; *Research in Veterinary Science* **(2010)**, xxx: xxx–xxx.

- Xizhao Sun, Luming Shen, Xiaoming Cong, Huaijun Zhu, Jianlin Lv, Lei He. Infrared spectroscopic analysis of urinary stones (including stones induced by melamine-contaminated milk powder) in 189 Chinese children; *Journal of Pediatric Surgery* **(2011)**, **46**, 723–728.

- Yasui, Masanori Iguchi, Sadao Suzuki, Atsushi Okada, Yasunori Itoh, Keiichi Tozawa, and Kenjiro Kohri, Prevalence and Epidemiologic Characteristics of Lower Urinary Tract Stones, *Japan Takahiro Urology* (**2008**), **72** (5).

- Yii-Her Chou, Ching-Chia Lib, Wen-Jeng Wu, Yung-Shun Juan, Shu-Pin Huang, Yung-Chin Lee, Chia-Chu Liu, Wei-Ming Li, Chun-Hsiung Huang and Ai-Wen Chang. Urinary

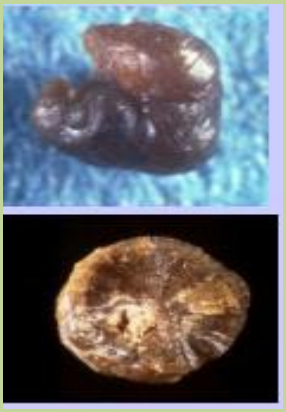
Stone Analysis of 1,000 Patients in Southern Taiwan; *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences* **(2007)**, **23**(2), 63-66.

- Yii-Her Chou, Hsun-Shuan Wang, Ching-Chia Li. Clinical Analysis of Patients with Urinary Calcium Phosphate Stones; *JTUA* **(2009)**, 20.

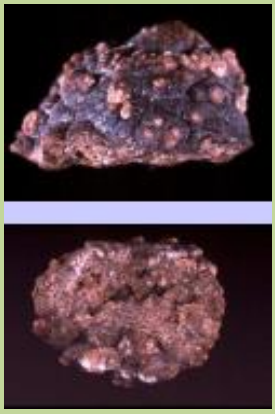
Annexes

Annexe 1 Types morphologiques des calculs urinaires selon Michel Daudon (*Daudon M., Laboratoire Cristal, Paris, France*)

Type I : oxalate de calcium monohydraté (whewellite)



Ia



Ib

Ic

Id

Type II : oxalate de calcium dihyraté (weddellite)

IIa

IIb (COD±COM)

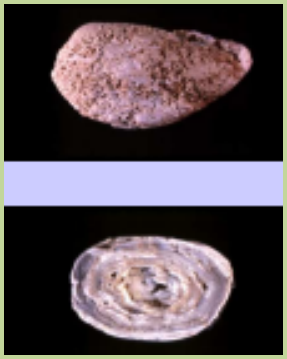
IIc

Type III : acide urique et urates

IIIa : AU_0

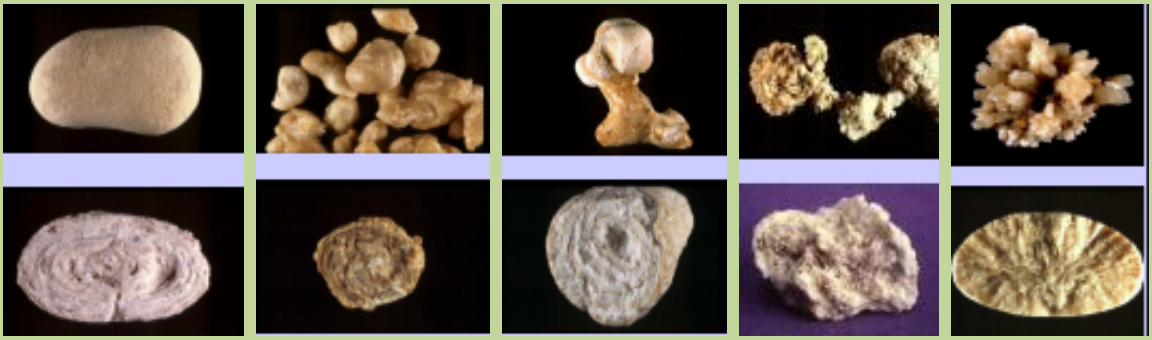
IIIb : AU_2±AU_0

IIIc : urates divers



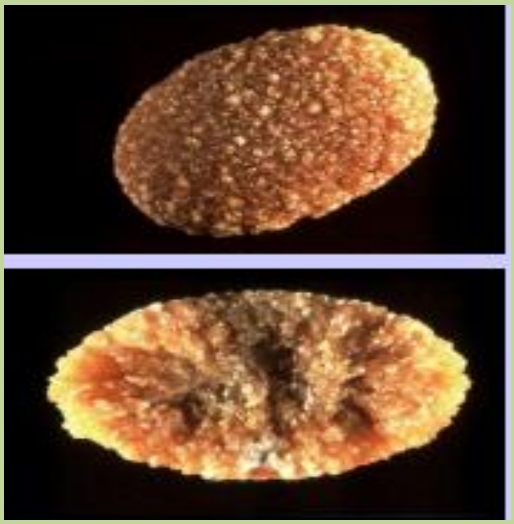
IIId : urate d'ammonium

Type IV : carbapatite, struvite, brushite



IVa1 : carbapatite **IVa2** : carbapatite **IVb** : CA+Struvite **IVc** : struvite **IVd** : brushite

Type V : cystine

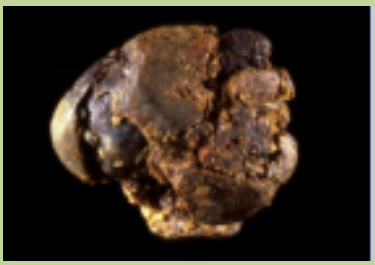


Va

Vb

Type VI : protéine et divers

VIa : protéine (Prot)



VIb : Prot.+médicament ou dérivés métaboliques

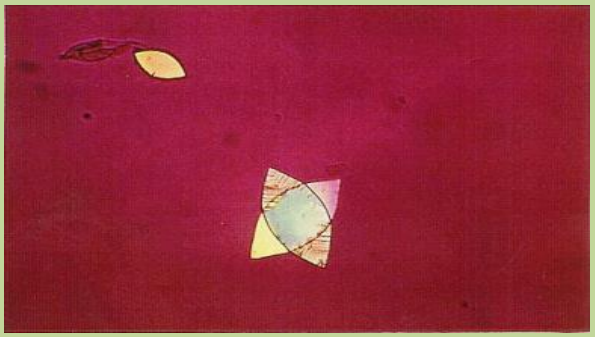
VIc : Prot.+whewellite

Annexe 2 Images des cristalluries observées au microscope optique à lumière polarisée

(*Daudon M., Laboratoire Cristal, Paris, France*)

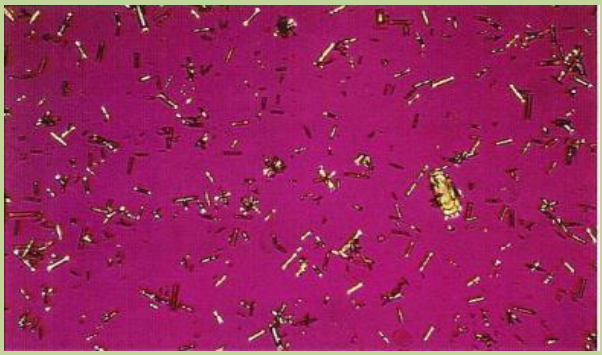
Planche 1 Cristaux pH-dépendants : métaboliques en urine acide

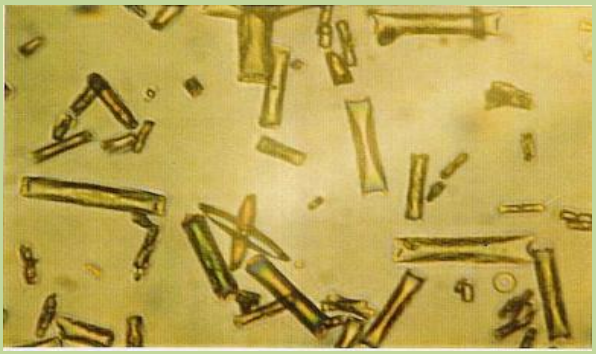
ACIDE URIQUE DIHYDRATE - pH 5,3



ACIDE URIQUE DIHYDRATE – pH 5,2

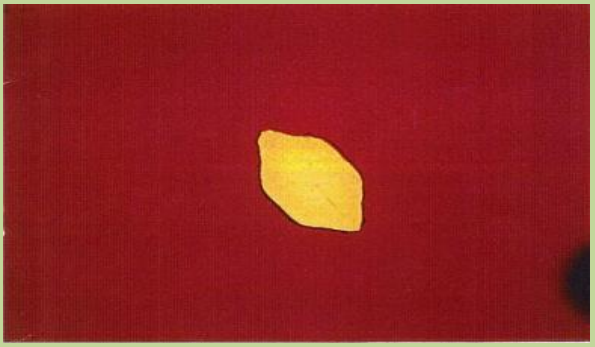
ACIDE URIQUE DIHYFRATE + URATES AMORPHES COMPLEXES – pH 5,3





ACIDE URIQUE DIHYDRATE – pH 5,4

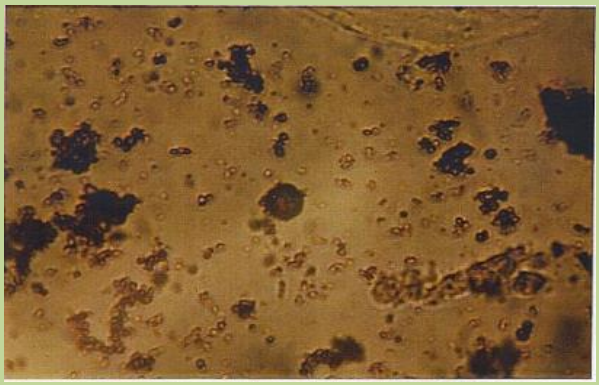
ACIDE URIQUE DIHYDRATE + WEDDELLITE
(nucléation hétérogene) – pH 5,5



ACIDE URIQUE DIHYDRATE – pH 5,4

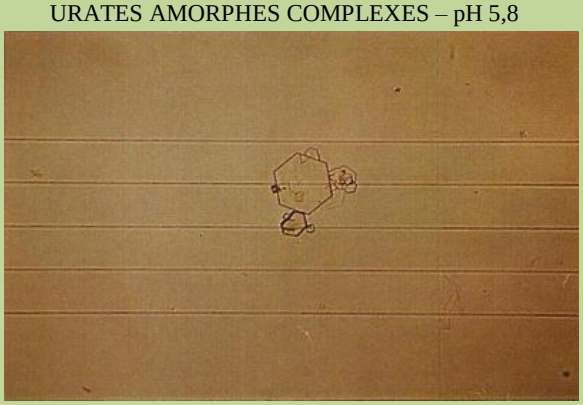
Planche 2 Cristaux pH-dépendants : métaboliques en urine acide

ACIDE URIQUE ANHYDRE + WHEWELLITE – pH 5,6

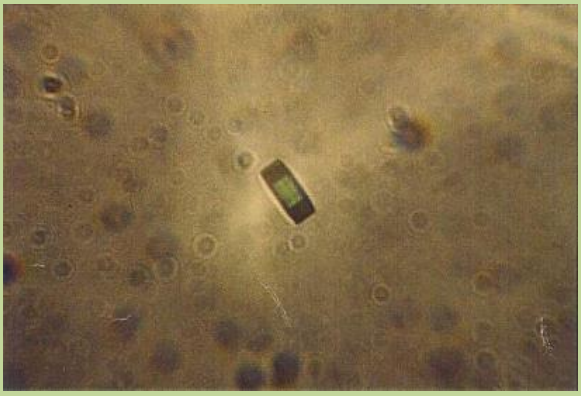


URATES AMORPHES COMPLEXES – pH 5,8

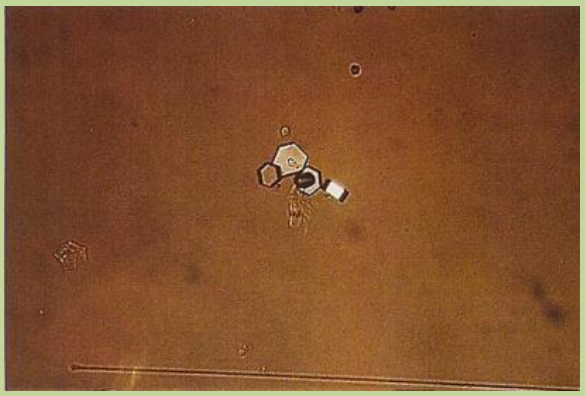
URATES AMORPHES COMPLEXES – pH 5,8



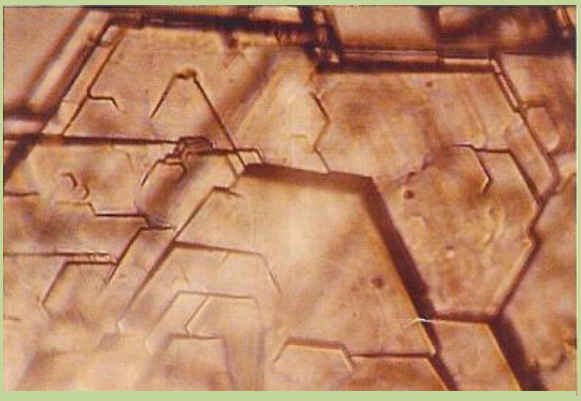
CYSTINE – pH 5,5



CYSTINE + PACC – pH 7,0



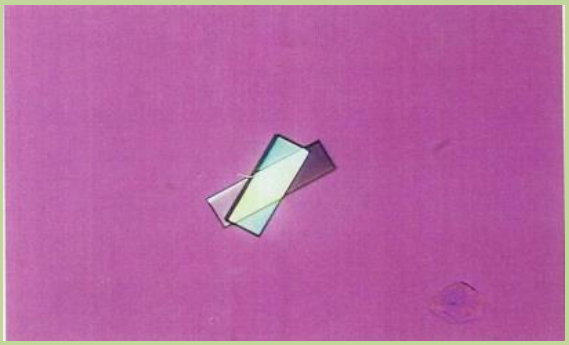
CYSTINE – pH 6,8



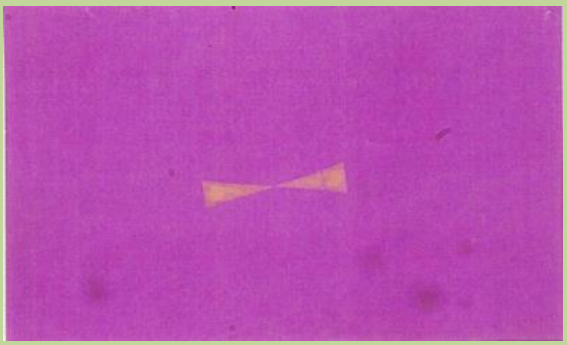
CRISTAUX ORIENTES CARACTERISTIQUES
D'AGREGAT DE CYSTINES – pH 6,1

CYSTINE – pH 6,4

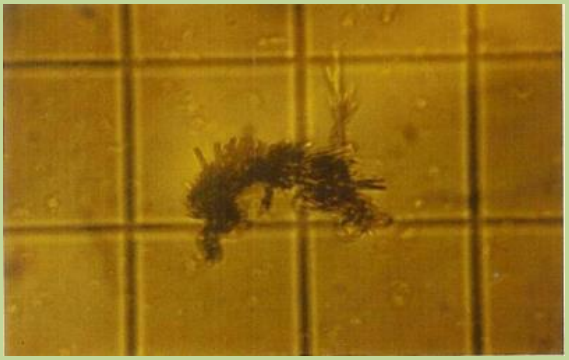
Planche 3 Cristaux pH-dépendants : cristaux médicamenteux en urine ± acide



N-ACETYLSULFAGUANIDINE – pH 7,4

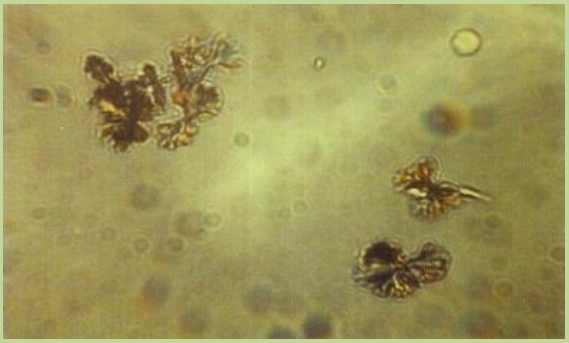


N-ACETYLSULFAGUANIDINE – pH 6,6

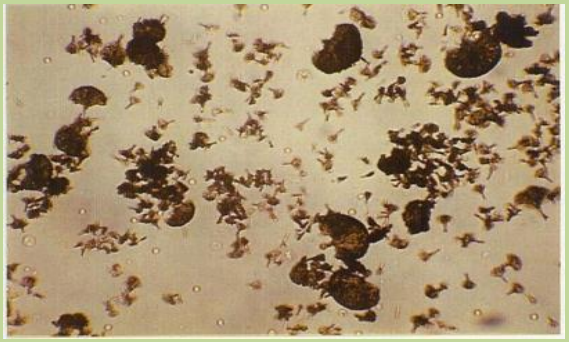


N- ACETYLSULFADIAZINE – pH 6,4

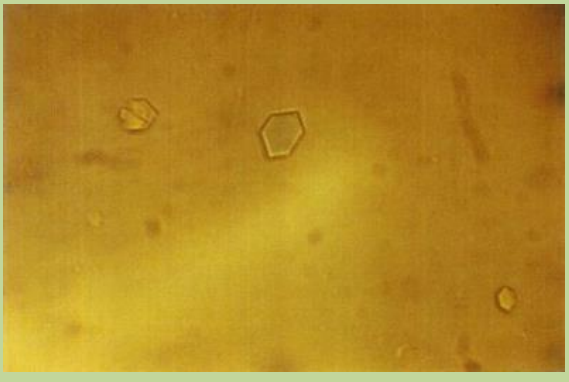
N-ACETYLSULFADIAZINE (baguettes) +
SULFADIAZINE (pseudosphères) – pH 6,5



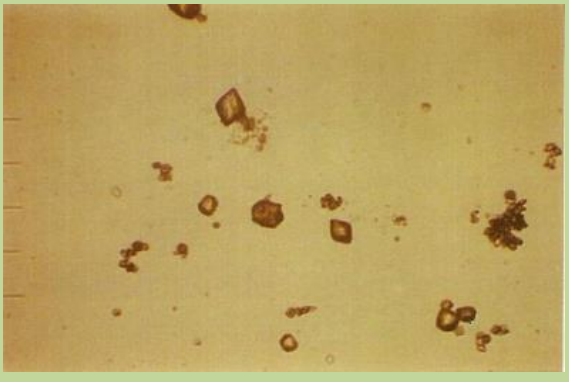
N-ACETULSULFADIAZINE – pH 6,6



N-ACETULSULFADIAZINE – pH 6,1

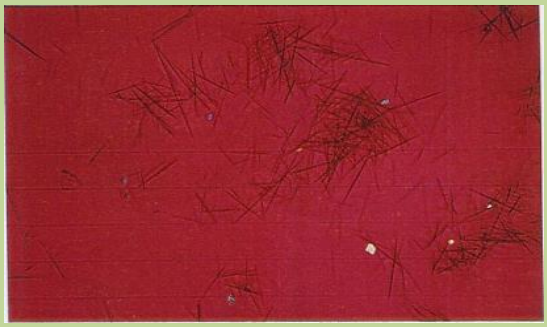


N-ACETYLSULFAMETHOXAZOLE, HCl – pH 5,6



N-ACETYLSULFAMETHOXAZOLE, HCl – pH 5,4

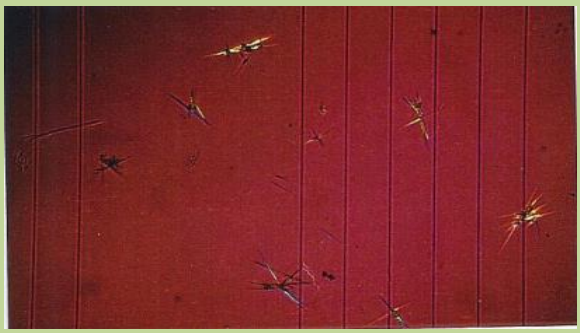
Planche 4 : Cristaux pH-dépendants : cristaux médicamenteux en urine ± acide



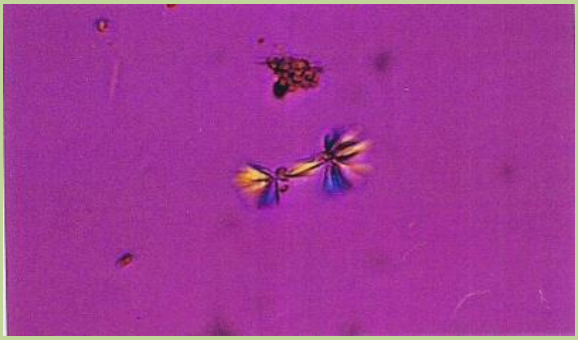
AMOXICILINE TRIHYDRATE +
N-ACETYLSULFAMETHOXAZOLE, HCl – pH 5,8

AMPICCILINE TRIHYDRATE – pH 6,0

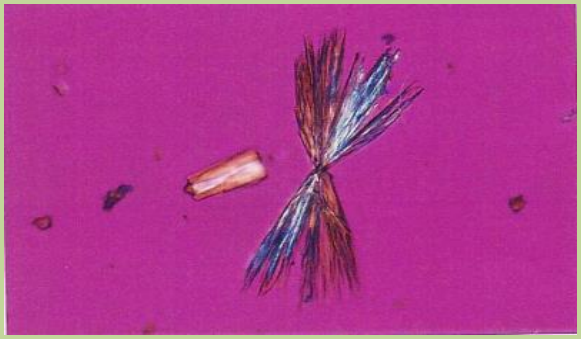
ACIDE OXOLINIQUE – pH 5,8



ACIDE PIPEMIDIQUE (METABOLITE) – pH 6,2

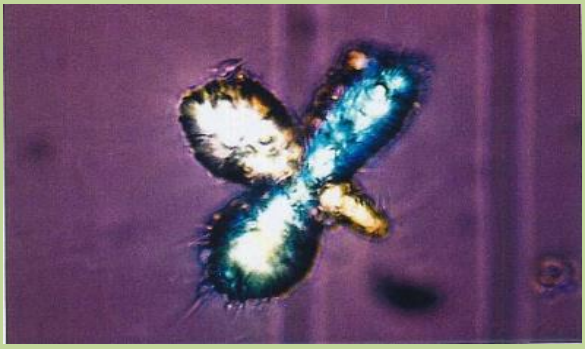


CEFTRIAXONATE DE CALCIUM – pH 7,3



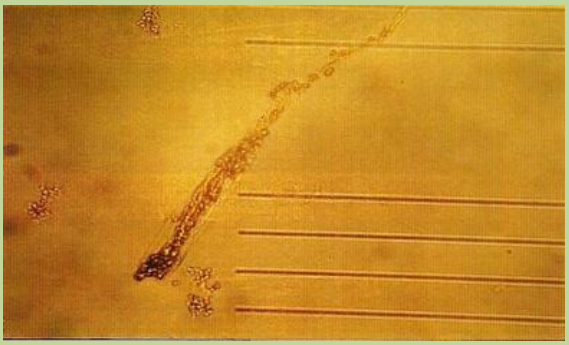
AGREGAT D'AIGUILLES POLARISANTS
D'INDINAVIR MONOHYDRATE – pH 6,3

INDINAVIR MONOHYDRATE – pH 6,2



INDINAVIR MONOHYDRATE – pH 6,0

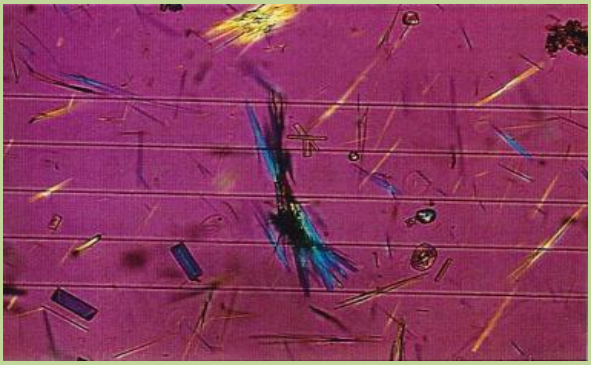
Planche 5 Cristaux médicamenteux ou induits par des médicaments ou des produits exogènes



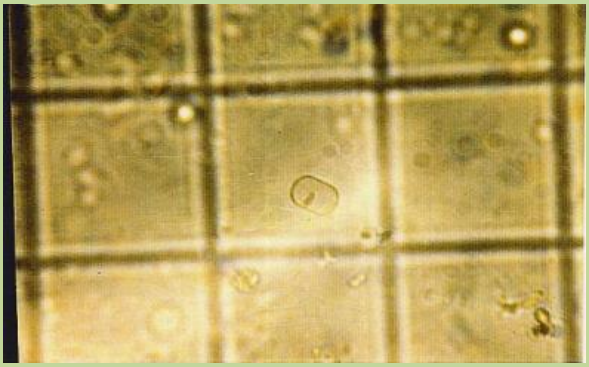
CYLINDRES D'ACIDES GLAFENIQUES LIBRES – pH 6,2

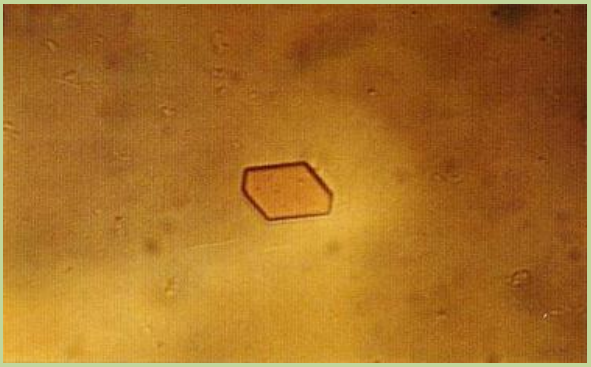
ACIDE GLAFENIQUE GLYCUROCONJUGUE – pH 6,2

ACICLOVIR – pH 6,6

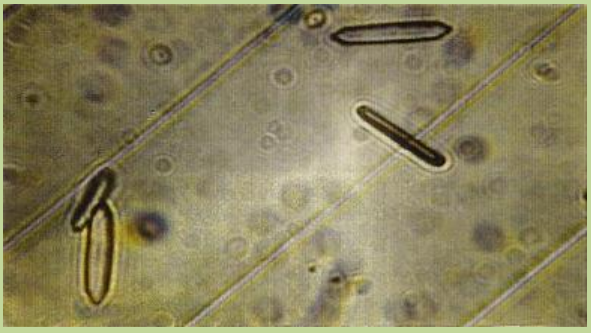


ACICLOVIR (AIGUILLES) + STRUVITE – pH 7,0





OXALATE DE CALCIUM TRIHYDRATE – pH 6,1 (cristaux observés lors des traitements par le piridoxilate, mais aussi dans certaines formes sévères de lithiases oxalocalciques avec hyperoxalurie majeure)

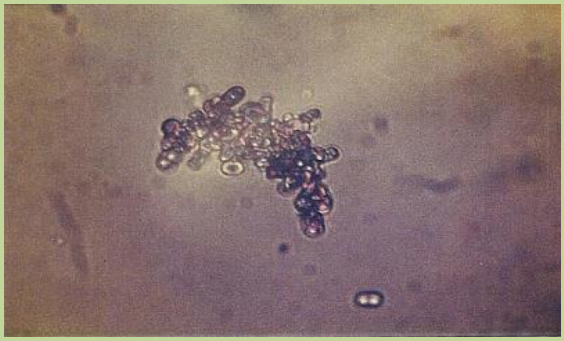


CRISTAUX DE WHEWELLITE OBSERVESAU COURS DES INTOXICATIONS PAR L'ETHYLENE-GLYCOL - PH 4,8

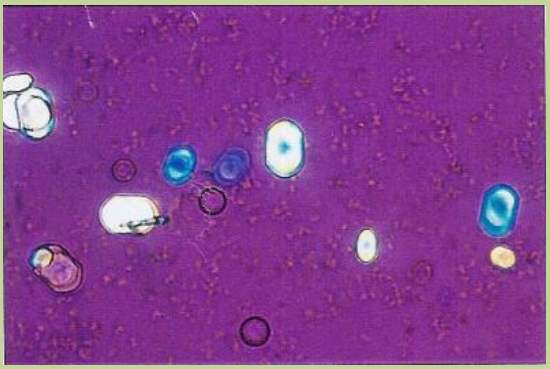
CRISTAUX DE WHEWELLITE OBSERVESAU COURS DES INTOXICATIONS PAR L'ETHYLENE-GLYCOL – pH 4,9

Planche 6 Cristaux ± indépendants du pH urinaire

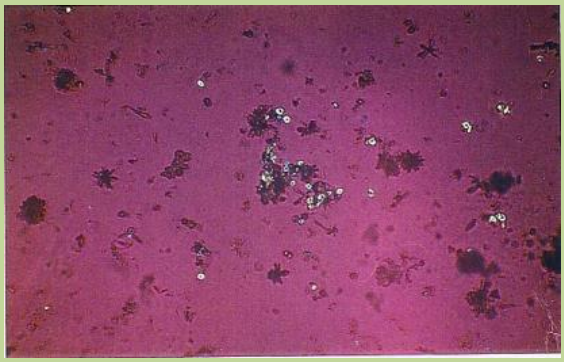
WHEWELLITE – pH 5,6



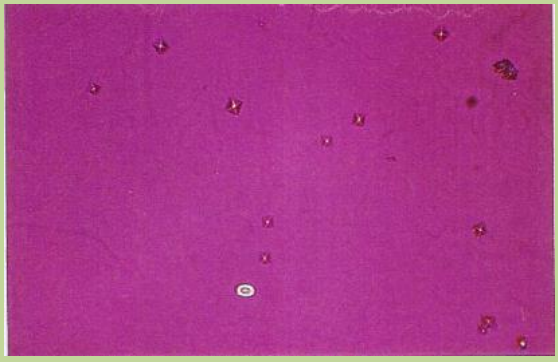
WHEWELLITE – pH 5,8



WHEWELLITE – pH 5,2

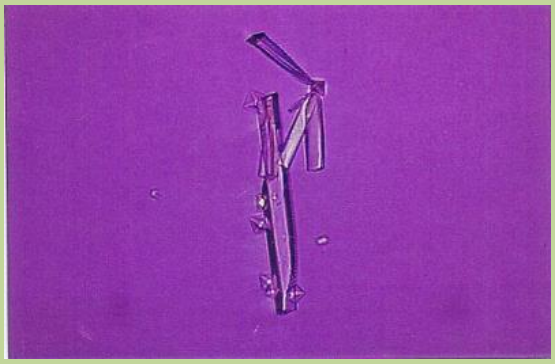


WHEWELLITE + BRUSHITE + PACC – pH 7,4



WEDDELLITE+WHEWELLITE – pH 6,0

VOLUMINEUX CRISTAUX DE WHEWELLITE ET DE WEDDELLITE – pH 5,8

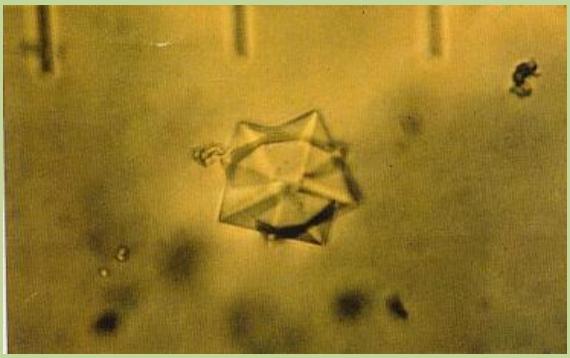


AGREGAT HETEROGENE DE WEDDELLITE ET DE BRUSHITE – pH 6,4

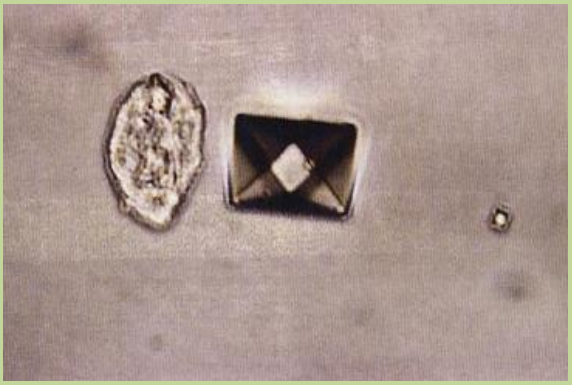
WEDDELLITE + WHEWELLITE – pH 5,8

Planche 7 Cristaux ± indépendants du ph urinaire

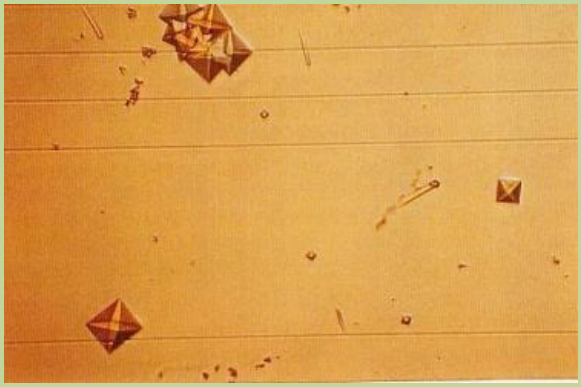
WEDDELLITE – pH 5,6



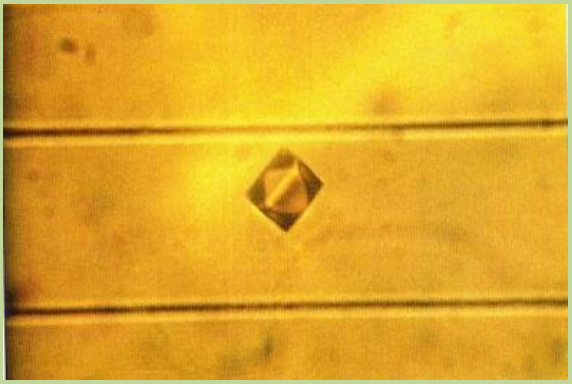
MACLE DE WEDDELLITE EN FORMATION – pH 6,2



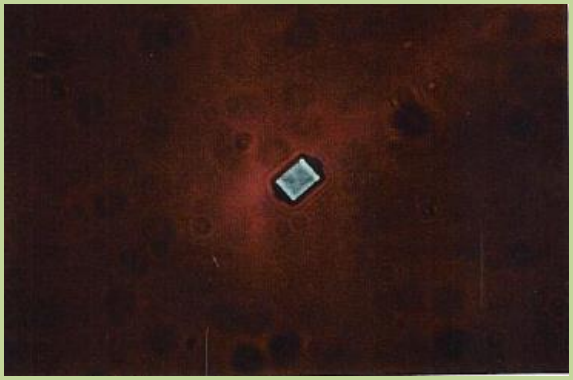
WEDDELLITE – pH 5,8



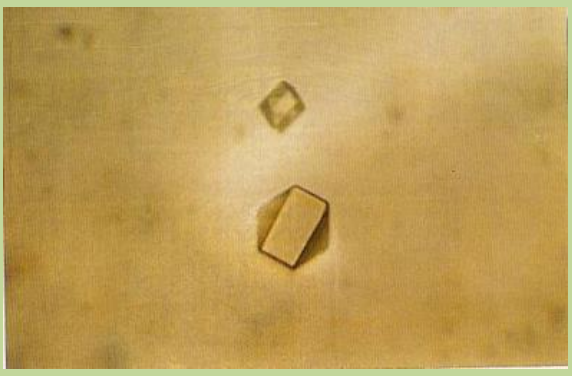
WEDDELLITE+BRUSHITE+PACC
(Nucléation hétérogène) – pH 6,2



WEDDELLITE – pH 5,4



WEDDELLITE – pH 6,3

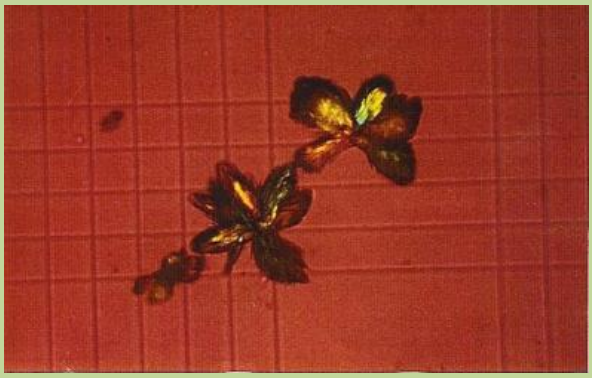


WEDDELLITE – pH 6,0

WEDDELLITE – pH 5,7

Planche 8 Cristaux ± indépendants du ph urinaire

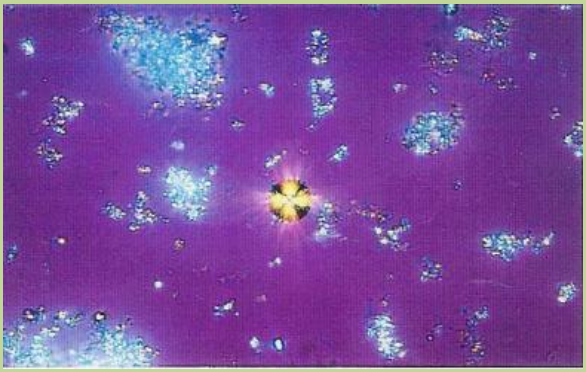
BRUSHITE – pH 6,4



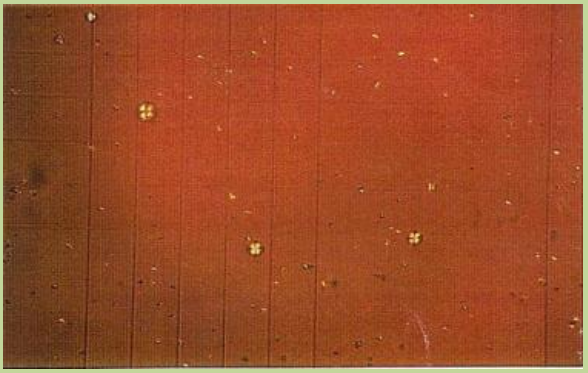
BRUSHITE – pH 6,0

BRUSHITE + PACC – pH 6,4

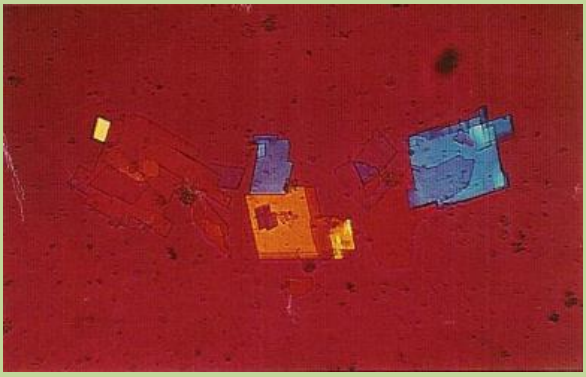
WEDDELLITE + BRUSHITE + PACC – pH 6,2



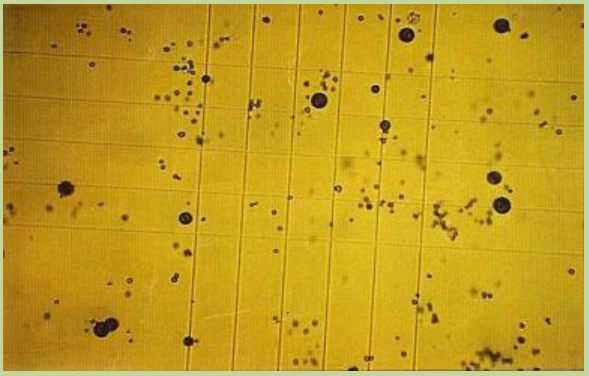
CRISTAL DE 2,8 – DIHYDROXYADENINE ET GRANULATIONS D'URATES AMORPHES COMPLEXES - pH 5,8



2,8 – DIHYDROXYADENINE URATES AMORPHES COMPLEXES - pH 5,2



CHOLESTEROL- pH 7,4

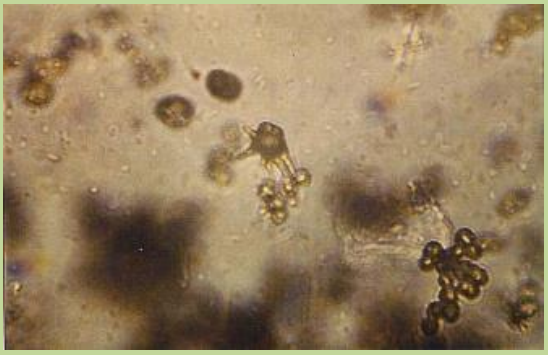


2,8 – DIHYDROXYADENINE – pH 6,4

Planche 9 Cristaux pH – dépendants : urines neutres ou alcalines

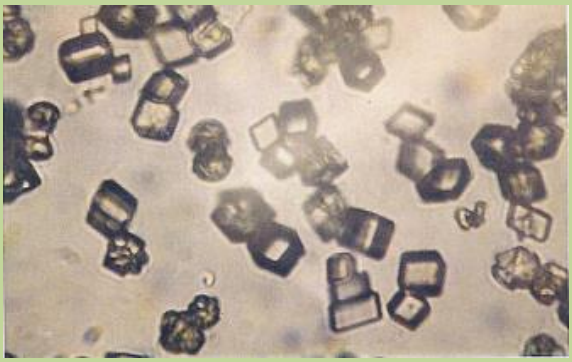
URATES D'AMMONIUM – pH 8,8

URATES D'AMMONIUM – pH 7,9



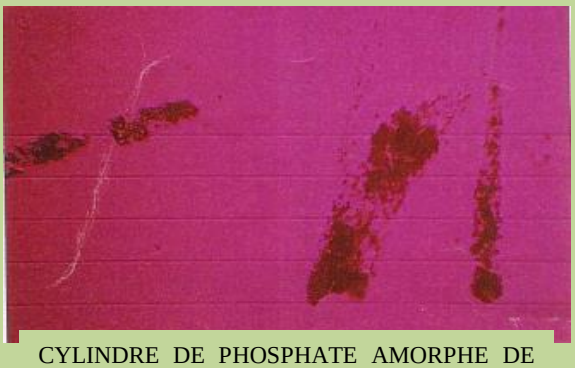
URATES D'AMMONIUM – pH 8,4

URATES ACIDES DE SODIUM – pH 9,0



CALCITE – pH 7,8

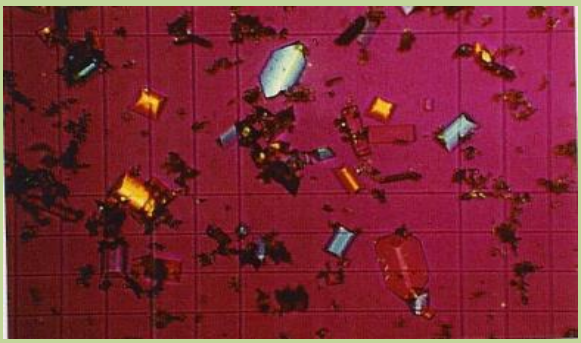
CYLINDRE DE PHOSPHATE OCTACALCIQUE PENTAHYDRATE – pH 6,6



CYLINDRE DE PHOSPHATE AMORPHE DE CALCIUM CARBONATE (PACC) – pH 7,0

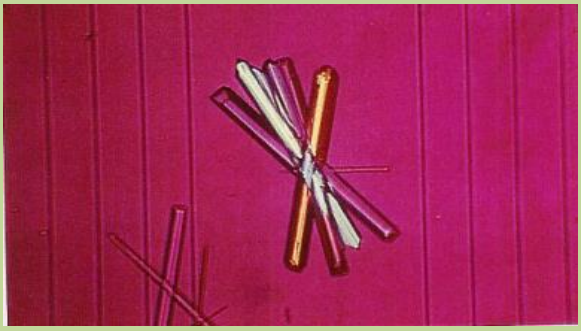
PHOSPHATE AMORPHE DE CALCIUM CARBONATE (PACC) – pH 6,6

Planche 10 Cristaux pH dépendants : urines neutres ou alcalines



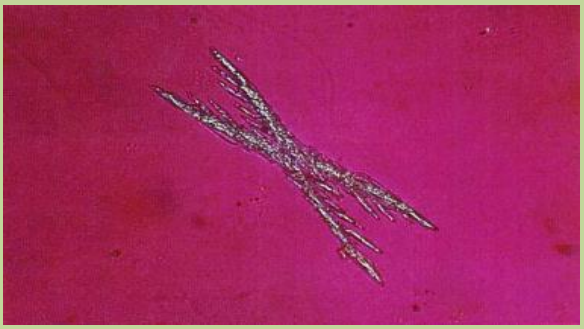
STRUVITE + CARBAPATITE – pH 7,6

STRUVITE – pH 8,0

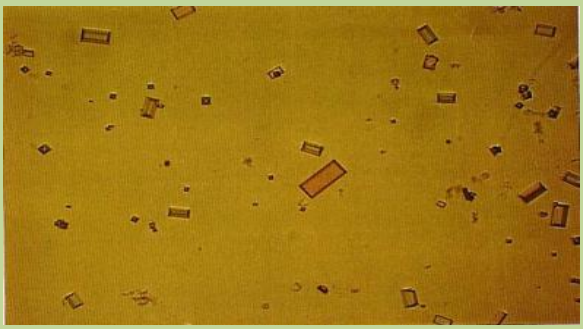


STRUVITE – pH 8,2

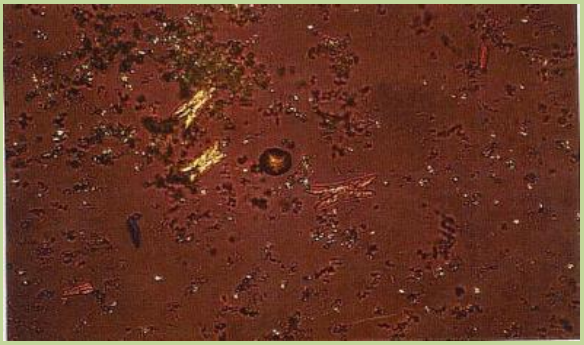
STRUVITE + BRUSHITE – pH 7,6



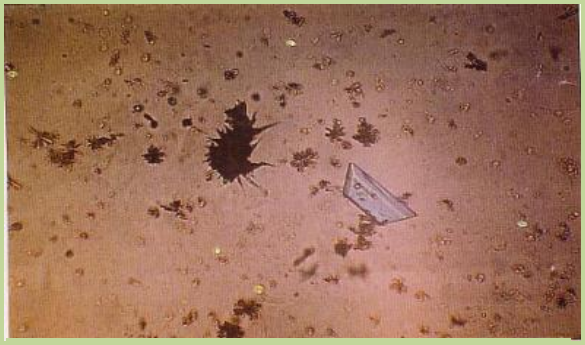
STRUVITE – pH 8,0



STRUVITE + WEDDELLITE – pH 7,6



STRUVITE + URATE ACIDE D4AMMONIUM – pH 8,7



WHEWELLITE + BRUSHITE + PACC + URATE ACIDE D'AMMONIUM – pH 8,4

Annexe 3 Spectres IRTF de référence des constituants urinaires (*Daudon M., Laboratoire Cristal, Paris, France*)

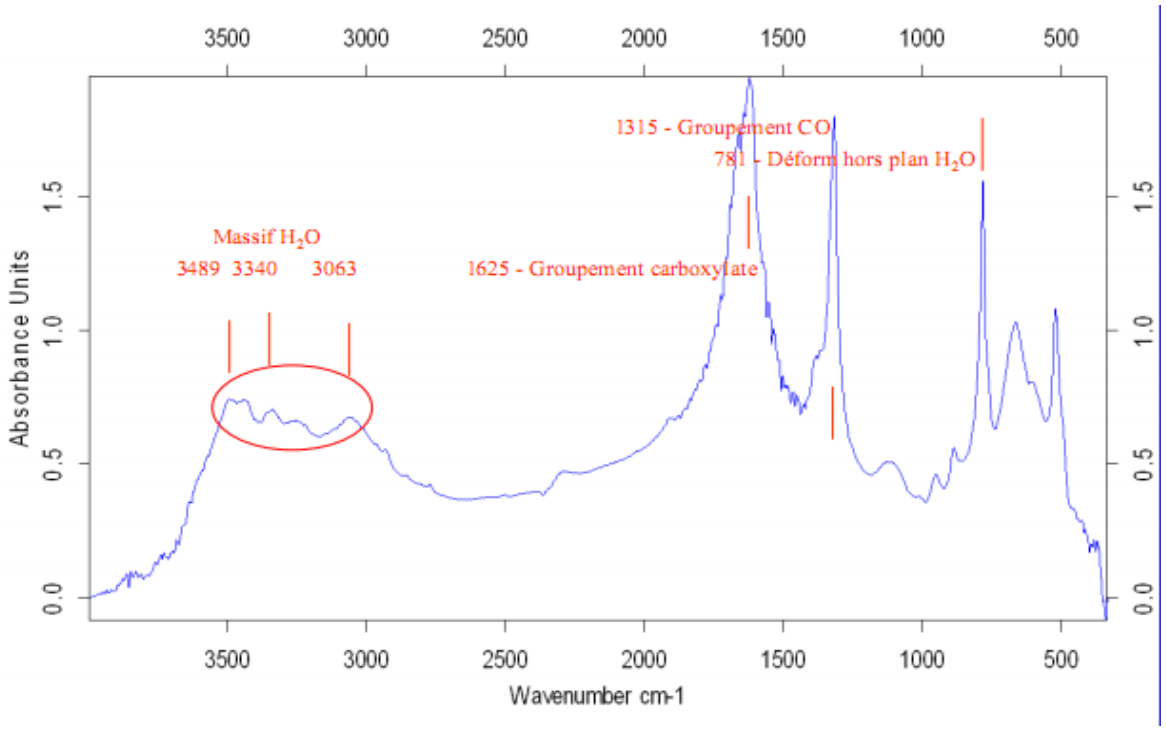


Figure A.3.1 Spectre IR de la whewellite

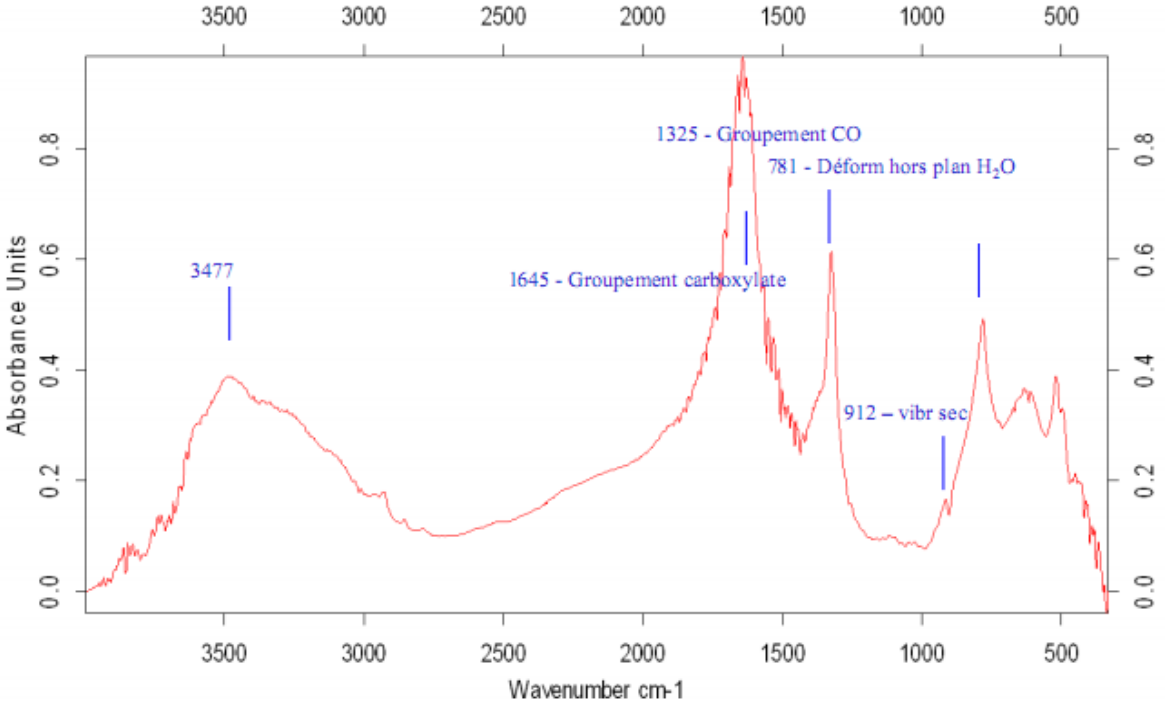


Figure A.3.2 : spectre IR de la weddellite

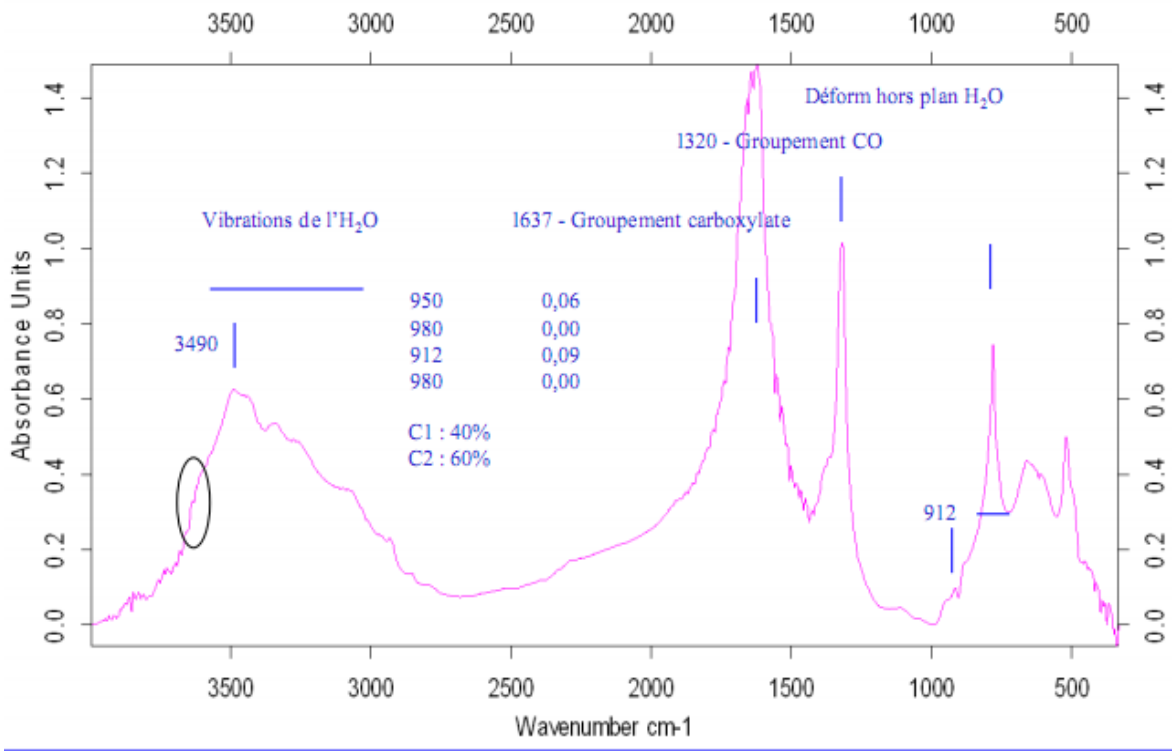


Figure A.3.3: spectre IR weddellite + whewellite

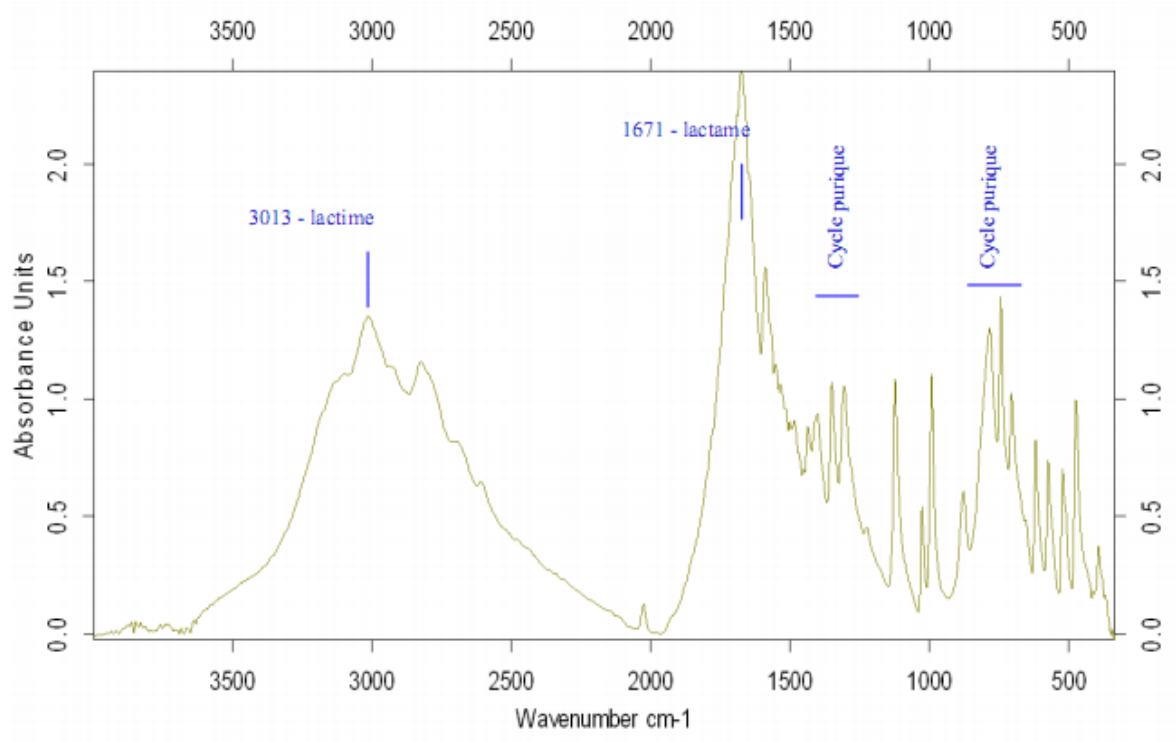


Figure A.3.4: spectre IR acide urique anhydre

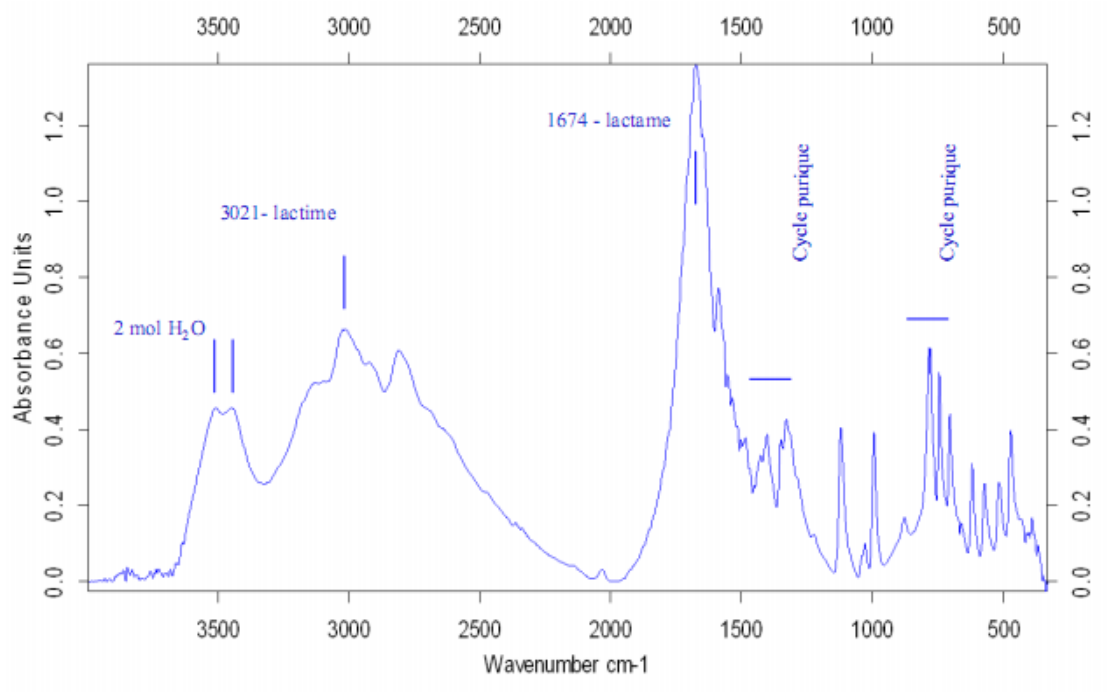


Figure A.3.5 : spectre IR acide urique dihydraté ($C_5H_4N_4O_3$.$2H_2O$)

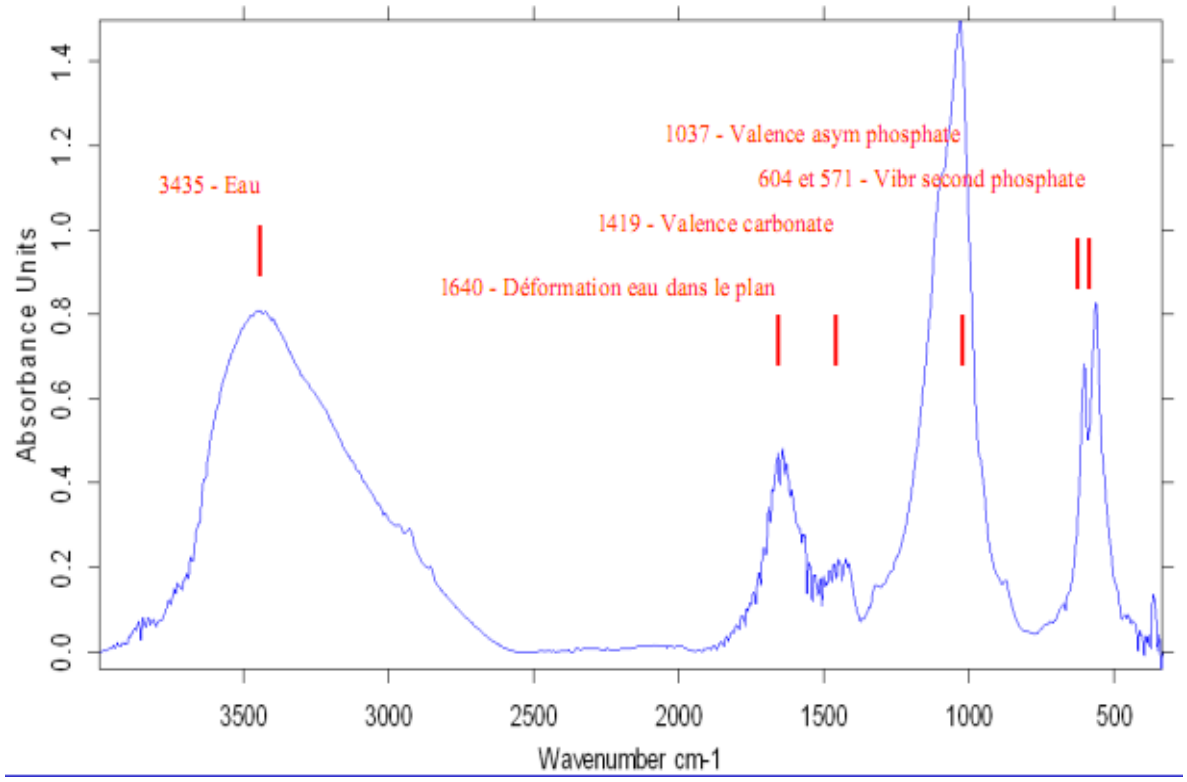


Figure A.3.6 : spectre IR carbapatite (Ca_{10} $(PO_4)_6$ CO_3)

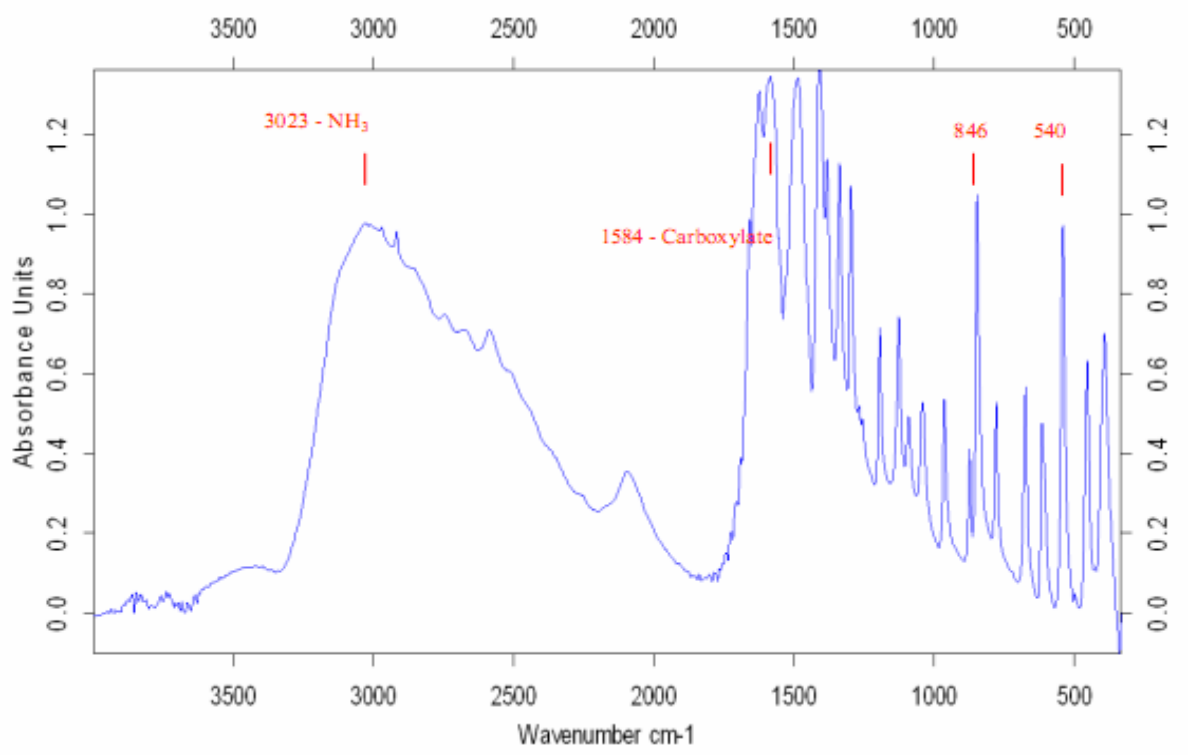


Figure A.3.7 : spectre IR de la cystine ($[-SCH_2CH(NH)_2COOH]_2$)

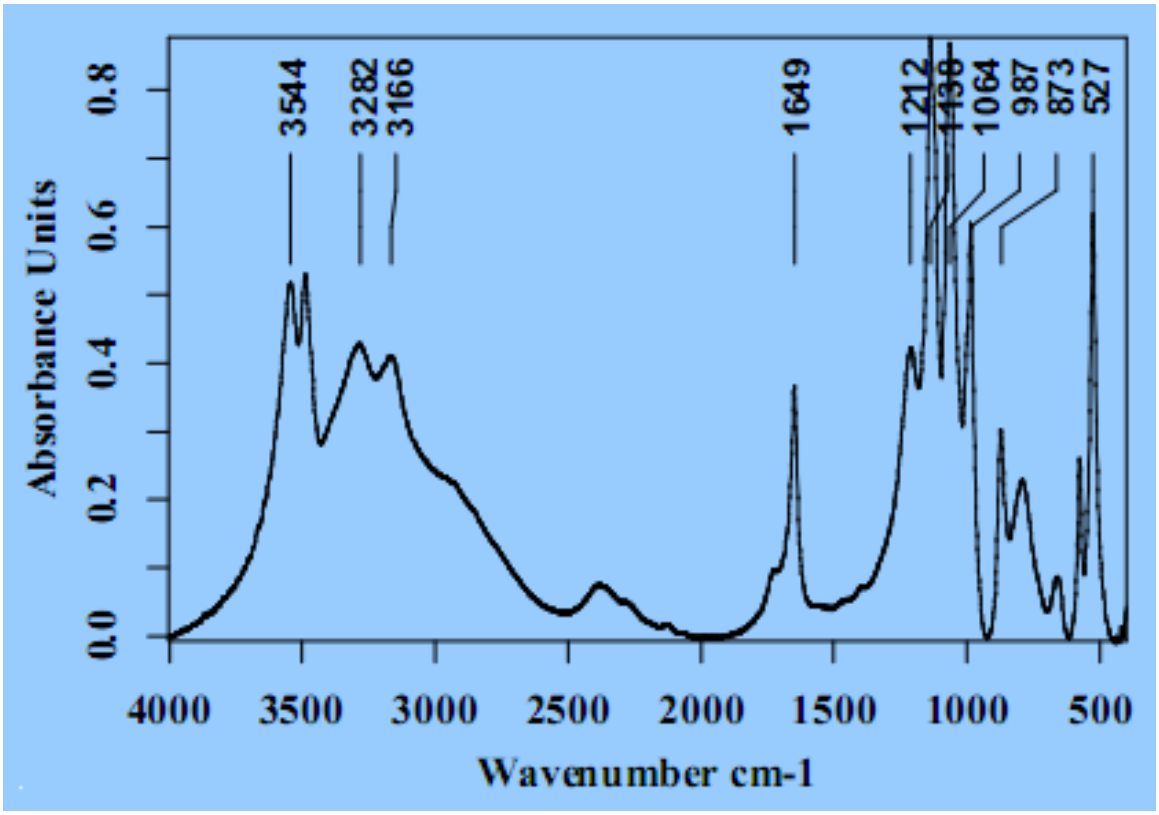


Figure A.3.8 : spectre IR de la brushite ($CaHPO_4.2H_2O$)

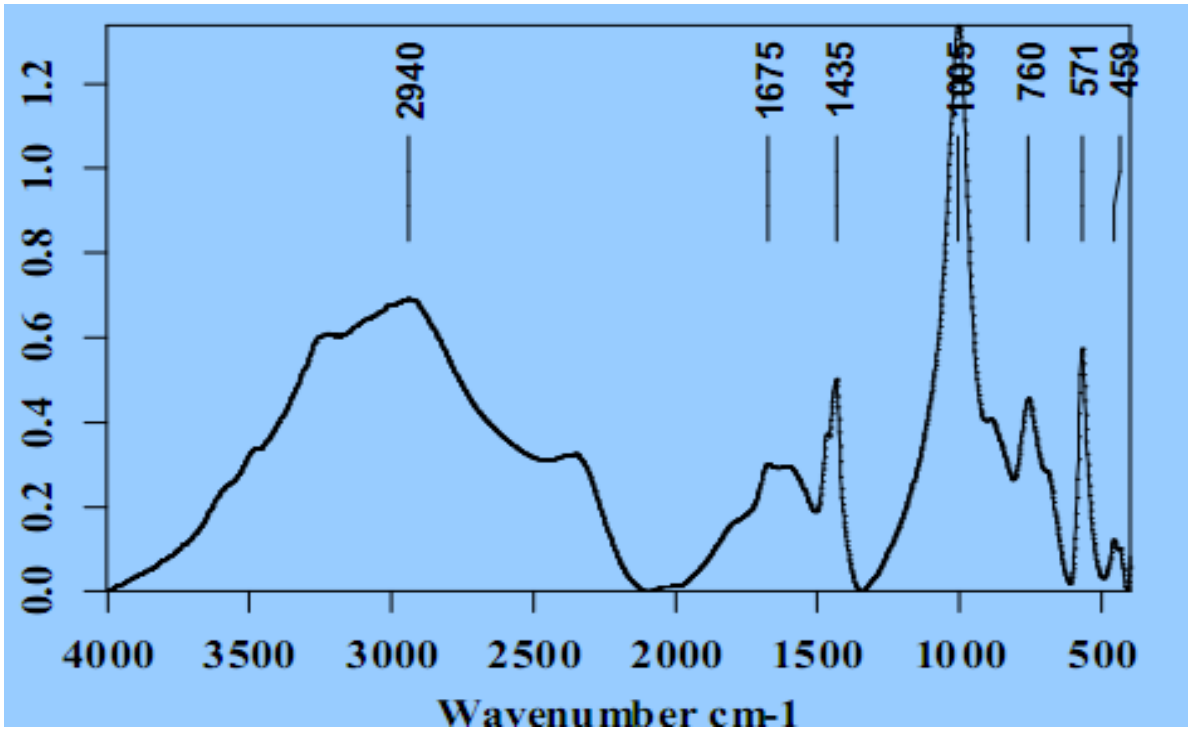


Figure A.3.9 : spectre IR de la struvite ($NH_4MgPO_4.6H_2O$)

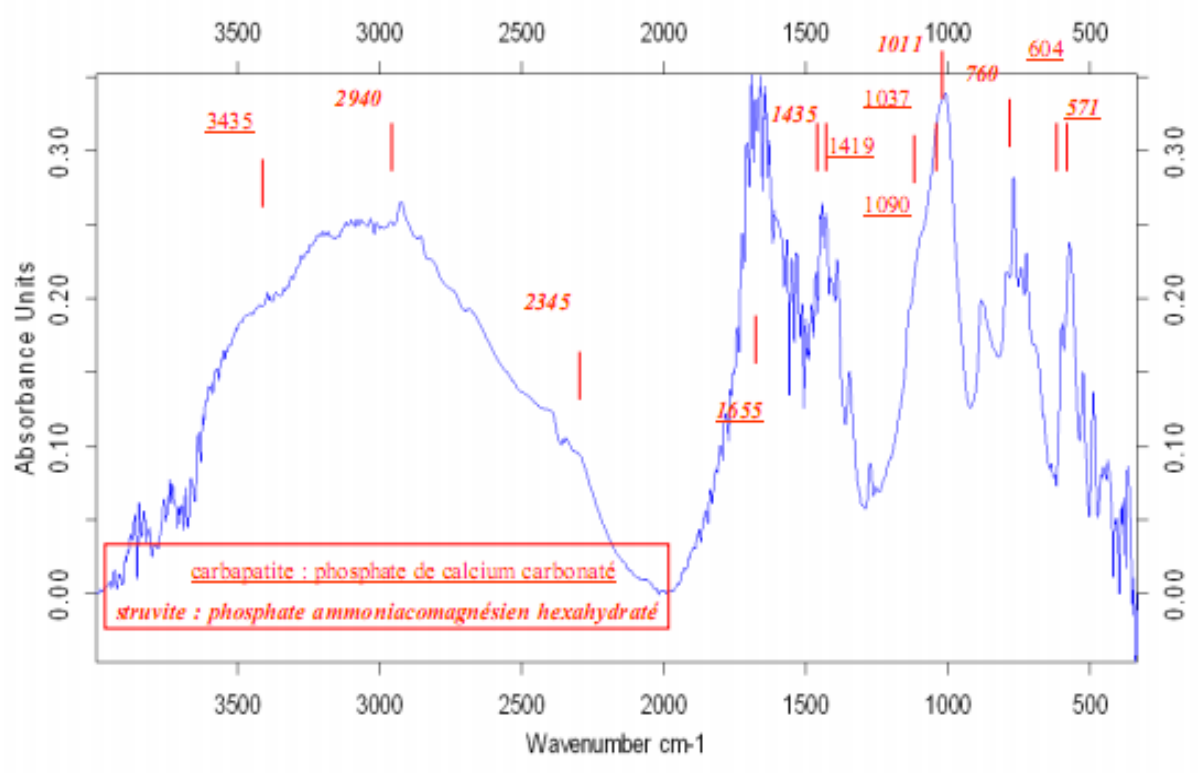


Figure A.3.10 : spectre IR d'un mélange de carbapatite + struvite

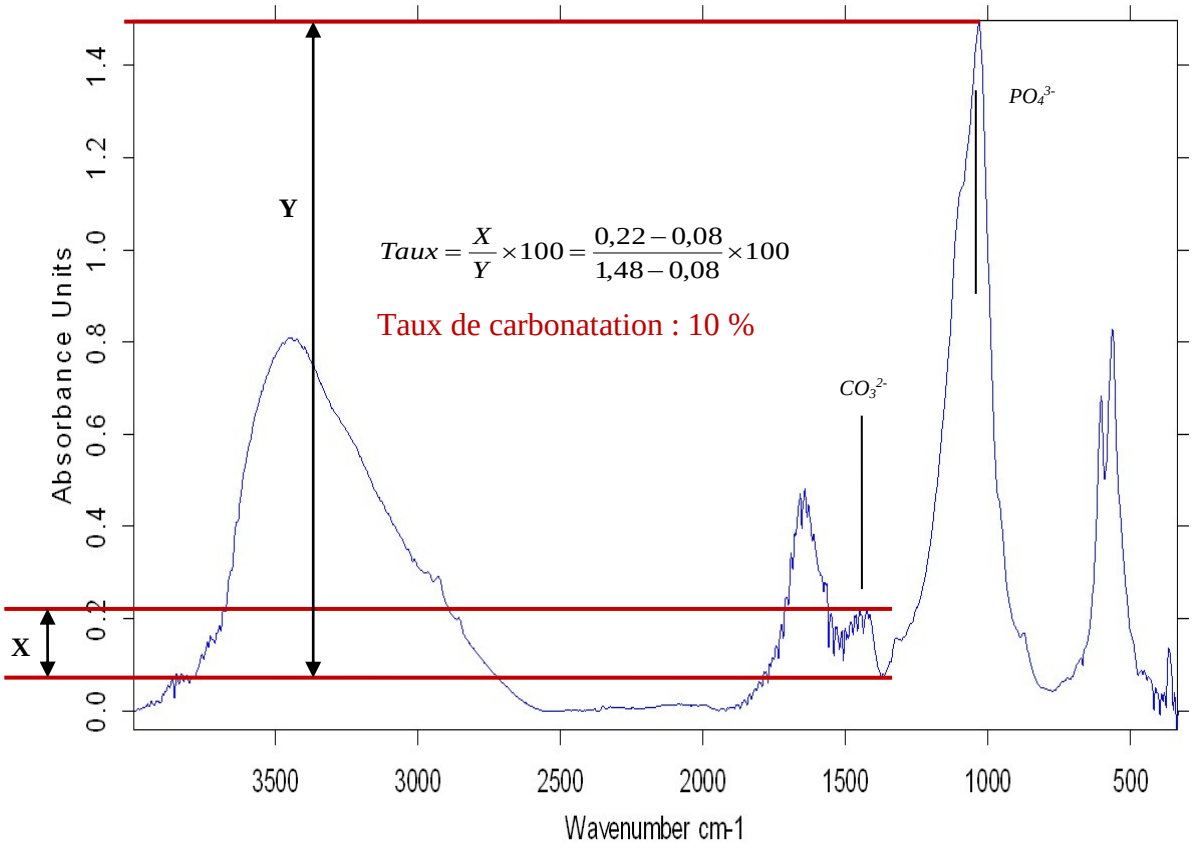


Figure A.3.11 : Carbapatite – Taux de carbonatation