



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

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/21753>

To cite this version:

Charlier, Marie. *Détermination d'un intervalle de référence de la serum amyloïde A mesurée par le solo chez le chat sain*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2018, 34 p.

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

ANNEE 2018 THESE : 2018 – TOU 3 – 4023

DETERMINATION D'UN INTERVALLE DE REFERENCE DE LA SERUM AMYLOÏDE A MESUREE PAR LE SOLO CHEZ LE CHAT SAIN

THESE pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

CHARLIER Marie

Née, le 09/07/1992 PONTIVY (56)

Directeur de thèse : Mme Catherine

TRUMEL

JURY

PRESIDENT :

Mme Monique COURTADE SAÏDI

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Catherine TRUMEL

Mme Nathalie BOURGES-ABELLA

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

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

Directrice : Madame Isabelle CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

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

PROFESSEURS 1^o CLASSE

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

PROFESSEURS 2^o CLASSE

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

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

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

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

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

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*

Mise à jour au 03/04/2018



Remerciements

A Madame la professeure Catherine Trumel

Professeure de Biologie Médicale et Comparée

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger et d'encadrer cette thèse. Pour avoir assuré la préparation du protocole d'étude. Malgré votre emploi du temps très chargé, vous avez su vous rendre disponible et prendre le temps de corriger ce travail avec efficacité. Je vous adresse mes sincères remerciements ainsi que mon grand respect.

A Madame la professeure Monique Courtade Saïdi

Docteur histologiste et cytologiste au Centre Hospitalier Universitaire de
Toulouse.

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.
Veuillez accepter mes sincères remerciements.

A Madame la professeure Nathalie Bourges-Abella

Professeure en Histologie.

Pour m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury de thèse. Veuillez
accepter mes sincères remerciements.

A Monsieur le professeur Jean-Pierre Braun

Professeur de biochimie à la retraite

Pour avoir assuré la préparation du protocole de cette étude au côté de
Madame Trumel ainsi que le traitement et l'analyse des résultats.
Veuillez accepter mes sincères remerciements.

Au Docteur Margot Grebert,

Pour m'avoir aidé dans la réalisation de cette étude et avoir assuré la récolte des données, la correction et la transmission de ces dernières.

Merci pour ta disponibilité et pour ta gentillesse.

A Madame Mélusine Quincey,

Assistante en soins vétérinaires à l'Ecole Nationale Vétérinaire de
Toulouse.

Pour m'avoir aidé à réaliser les prélèvements de sang de l'ensemble des 45 chats présentés pour cette étude. Merci pour ta sympathie, ton dynamisme, ta disponibilité, ta pédagogie et ta bonne humeur.

A Madame Françoise Michel,

Assistante en soins vétérinaires à l'Ecole Nationale Vétérinaire de
Toulouse.

Pour avoir secondé Madame Quincey pour assurer, à mes côtés, les prélèvements sanguins et pour avoir été volontaire au sein de cette étude. Mes sincères remerciements pour ta disponibilité, ton amabilité, ta positivité et ta gentillesse.

Au docteur Franck Jolivet,

Pour avoir été disponible pour réaliser certains prélèvements sur les chats difficiles et lorsque Madame Quincey et Madame Michel n'étaient pas disponibles. Mes sincères remerciements pour votre disponibilité, votre efficacité, votre sympathie et votre professionnalisme.

A l'ensemble des participants de cette étude,

Pour vous être rendus disponibles et pour avoir fait le déplacement avec votre chat à la clinique. Merci d'avoir pris le temps de participer et d'avoir rendu cette étude possible. Je vous en suis très reconnaissante.

SOMMAIRE

Liste des tableaux.....	- 9 -
Liste des figures.....	- 9 -
Liste des Annexes.....	- 9 -
Introduction	- 9 -
I. Description du protocole d'étude	- 13 -
1. Personnes impliquées	- 13 -
2. Période et durée de l'étude	- 14 -
3. Protocole expérimental	- 14 -
a. Recrutement des animaux	- 14 -
b. Identification des animaux.....	- 15 -
c. Critères d'exclusion des animaux.....	- 15 -
4. Réalisation des prélèvements	- 15 -
a. Site du prélèvement :.....	- 15 -
b. Conditions pré-analytiques	- 16 -
c. Matériel utilisé.....	- 16 -
5. Analyses.....	- 16 -
6. Interprétation des résultats– statistiques	- 17 -
II. Epidémiologie descriptive de l'étude	- 17 -
1. Répartition des âges des chats de l'étude	- 17 -
2. Répartition des sexes des chats de l'étude	- 18 -
3. Répartition des statuts physiologiques des chats de l'étude.....	- 19 -
4. Races des chats de l'étude	- 20 -
5. Nombre final de spécimens inclus dans l'étude	- 20 -
III. Interprétation des résultats des dosages de SAA	- 21 -
IV. Discussion	- 22 -
1. Limites de l'étude	- 22 -
a. Limites relatives aux chats participants à l'étude.....	- 22 -
b. Limites relatives aux prélèvements sanguins	- 23 -

c. Limites relatives à la manipulation et analyse des spécimens	- 23 -
V. Conclusion	- 24 -
Bibliographie	- 26 -
Annexes	- 28 -

Liste des tableaux

Tableau 1 Races des chats présentés dans l'étude	- 20 -
Tableau 2 Chats non inclus dans l'étude.....	- 21 -

Liste des figures

Figure 1 : Répartition des âges des chats de l'étude	- 18 -
Figure 2 : Répartition des sexes des chats de l'étude	- 19 -
Figure 3 : Répartition des statuts physiologiques des chats de l'étude.....	- 19 -

Liste des Annexes

Annexe 1 : Fiche d'accompagnement des prélèvements sanguins	- 29 -
Annexe 2 : Fiche de consentement éclairé	- 30 -
Annexe 3 : Résultats des dosages des spécimens sélectionnés	- 31 -

Introduction

De nombreuses affections (maladies infectieuses, infestations parasitaires, processus néoplasiques, ...) peuvent être à l'origine d'une réaction

inflammatoire. La réaction inflammatoire fait partie du système immunitaire inné de l'organisme et se définit comme une réponse à toute agression d'origine exogène (infection, traumatisme, chirurgie) ou endogène (phénomène néoplasique, lésions métaboliques et/ou dégénératives). Les conséquences d'une réponse inflammatoire, à la fois cliniques et biologiques, varient selon l'espèce animale ^[1]. Le tableau clinique d'un processus inflammatoire comprend de l'hyperthermie et des modifications comportementales (léthargie, anorexie, adipsie, baisse d'activité sociale/sexuelle, ...). Le tableau biologique est caractérisé par des modifications de variables sanguines ^[3] telles que le leucogramme (morphologie et numération), la protidémie, le rapport albumine/globuline et l'électrophorèse des protéines sériques. La mesure de la fibrinogénémie ainsi que les nouveaux marqueurs de l'inflammation, regroupant les protéines sériques de la phase aiguë de l'inflammation : protéine C-Réactive (CRP), protéine sérique Amyloïde A (SAA), haptoglobine et alpha-1 glycoprotéine (AGP), en complément des variables habituelles, présentent un intérêt dans la détection précoce de l'inflammation chez un animal ^[4].

Chez le chat, l'identification d'un processus inflammatoire au niveau biologique repose classiquement sur l'observation d'une leucocytose, d'une augmentation de la protidémie et d'une baisse du rapport albumine/globuline. A l'heure actuelle, le dosage des protéines sériques, marqueurs de la phase aiguë de l'inflammation, est peu réalisé. Les études expérimentales montrent que la SAA, l'AGP et l'Hp sont des protéines positives de la phase aiguë de l'inflammation chez le chat. En effet, leurs concentrations sériques augmentent en cas de processus inflammatoire ^[3]. L'augmentation de la SAA est plus précoce et plus significative que celles de l'AGP et de l'Hp ^[9]. Si, chez le chien, les données concernant les protéines positives de l'inflammation sont bien

documentées, notamment concernant la CRP, il n'en est pas de même chez le chat, pour qui les données sont encore peu nombreuses.

La SAA est une petite protéine de 15 KDa de la famille des apolipoprotéines synthétisée principalement par le foie et, de façon plus marginale, par les reins, la moelle osseuse, les intestins et les adipocytes ^[2]. La SAA est un marqueur sensible de l'inflammation. Son augmentation sérique est rapide (6 à 10h) et son pic de concentration est atteint en moins de 48 heures. Sa normalisation commence dès le début de la guérison (quelques jours) du fait d'un temps de demi-vie très court (30 minutes à 2h). Lors d'un processus inflammatoire, la concentration sérique de SAA augmente sous l'effet des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6) qui stimulent la production hépatique et extra-hépatique de SAA. Cette apolipoprotéine se retrouve majoritairement dans les HDL (High Density Lipoprotéine) inflammatoires dits HDL₃. La SAA modifie la structure et la fonctionnalité des HDL₃ et favorise l'efflux du cholestérol, libéré lors de la lyse cellulaire. Riches en SAA et en cholestérol, les HDL₃ sont ensuite rapidement épurées par le foie ^[2]. En plus de son implication dans le métabolisme du cholestérol, la SAA participe à la modulation du système immunitaire : chimiotactisme des cellules inflammatoires au site d'inflammation, stimulation de protéases de réparation tissulaire, induction de cytokines pro-inflammatoires, inhibition du relargage de myéloperoxydase (présente dans certaines cellules phagocytaires), inhibition de la prolifération des lymphocytes et inhibition de médiateurs pro-inflammatoires ^[2] ^[6].

Réussir à doser rapidement la SAA au chevet des malades présente un intérêt non seulement pour détecter un processus inflammatoire aigu chez le chat mais aussi pour le suivi lors de traitements. Sa clairance et son augmentation rapide permettraient d'identifier efficacement des récives ou des complications secondaires de type sepsis ou défaillance multiviscérale lors

de suivi thérapeutique ou post-opératoire. Le dosage de la SAA et l'interprétation des résultats présentent actuellement plusieurs limites car les techniques de dosage validées sont peu nombreuses. Seule, une méthode de dosage a été validée pour le dosage de la SAA chez le chat : la technique ELISA de type sandwich à l'aide d'anticorps anti-SAA féline et d'antisérum polyclonal canin dirigé contre la SAA féline ^[2]; la concentration en SAA est mesurée par immunoturbidimétrie. Cette méthode est délicate à mettre en œuvre chez le chat, nécessite d'être menée en laboratoire d'analyses vétérinaires donc, hors clinique vétérinaire, et les mesures manquent souvent de précision.

Depuis peu de temps, un automate utilisable en pratique vétérinaire et capable de mesurer la SAA a été mis sur le marché. L'automate est appelé le SOLO (Scil Animal Care), analyseur compact, portable et rapide qui permet le dosage unitaire de variables biologiques telles que la SAA directement en clinique. La SAA est mesurée par immunoturbidimétrie à chaud à partir de 5µL de sérum. L'automate mesure la turbidité du milieu provoquée par l'agglutination de la protéine SAA sur des billes de latex entourées d'anticorps anti-SAA. L'augmentation de turbidité du milieu traduit une augmentation de concentration en SAA. Une étude expérimentale antérieure a été menée entre 2014 et 2015 ^[7] et les résultats du dosage de SAA obtenus via le SOLO ont été comparés à la méthode de référence (Eiken assay immunoturbidimetric method). Un biais systématique a été observé entre les deux méthodes ^[7]. La détermination d'un intervalle de référence de la SAA lors de son dosage avec le SOLO est donc nécessaire.

Le concept d'intervalle de référence est connu depuis 1969 ^[8]. Il est utilisé afin de décrire la dispersion de variables données au sein d'une population d'individus sains. Pour établir un intervalle de référence, il convient de suivre les recommandations de l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Le

principe de base à respecter concerne l'échantillon de population choisi avec un minimum requis de 120 individus. Chaque individu de la population est sélectionné au préalable sur la base de critères précis. Néanmoins, lorsque le nombre d'individus ne peut atteindre le minimum de 120, des alternatives sont possibles : une méthode statistique non paramétrique est alors employée (Horn's robust method) [8]. Notons qu'un échantillonnage de taille plus faible engendre des résultats moins précis.

L'objectif de cette étude était de déterminer un intervalle de référence de la concentration de la SAA mesurée avec le SOLO à partir d'une population de référence comprenant 40 chats sains.

I. Description du protocole d'étude

1. Personnes impliquées

L'étude a été effectuée par M. Gregert et M. Charlier, sous la responsabilité de Mme C. Trumel, avec l'assistance de :

- C. Trumel : préparation du protocole, interprétation des résultats,

- J.P. Braun : préparation du protocole, traitement et analyse des résultats,
- M. Charlier : recrutement des cas, gestion des résultats,
- M. Quincey : réalisation de l'examen clinique et du prélèvement sanguin,
- M. Grébert : réalisation des analyses, gestion des résultats, réalisation d'un résumé pour un congrès et d'un poster.

2. Période et durée de l'étude

L'étude s'est déroulée de Novembre 2016 à février 2018.

3. Protocole expérimental

a. Recrutement des animaux

Un nombre suffisant de prélèvements a été effectué pour obtenir 40 résultats exploitables. Les critères d'inclusion des animaux ont été les suivants :

- Chat âgé de plus de six mois
- Animal en bonne santé d'après les propriétaires, sans affection connue le jour de leur inclusion dans le protocole, ne présentant pas d'anomalies à l'examen clinique et au bilan biologique de base, ayant eu un test FeLV et FIV négatif.
- Animal présenté en consultation vaccinale à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ou amené par son propriétaire (personnel administratif ou étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse) sur la base du volontariat.
- Les animaux ont été inclus uniquement après une complète information du propriétaire associée à la signature du « Formulaire de consentement éclairé » (Annexe 1).

b. Identification des animaux

Chaque chat sélectionné pour l'étude avait une fiche d'accompagnement du prélèvement sur laquelle ont été inscrits le nom du propriétaire, son numéro de dossier, son numéro d'identification pour l'étude (annexe 2) et des fiches d'analyses (annexe 3, 4 et 5). Pour préserver l'anonymat, les chats ont été identifiés de la façon suivante : « de 1 à 45 », et seul leur numéro d'étude a été mentionné sur les résultats d'analyses. Cinq chats ont finalement été exclu de l'étude en raison de paramètres cliniques et biologiques qui n'entraient pas dans les critères d'inclusions. Un total de 40 cas a été conservé pour l'étude.

c. Critères d'exclusion des animaux

Les critères d'exclusion des animaux ont été les suivants :

- Un animal ayant reçu un traitement durant le mois précédant la consultation, excepté un traitement antiparasitaire externe.
- Un animal ayant souffert d'une quelconque affection durant le mois précédent la consultation.
- Un animal ayant une anomalie significative détectée à l'examen clinique.
- Un animal ayant eu un résultat positif au dépistage de la leucose féline et du syndrome d'immunodéficience acquise au cours de sa vie ou à celui réalisé lors de la consultation comme précédemment décrit ou présentant des anomalies significatives sur son bilan biologique de base.

4. Réalisation des prélèvements

a. Site du prélèvement :

La prise de sang a été réalisée à la veine jugulaire.

b. Conditions pré-analytiques

Chaque animal a été soigneusement tondu en regard de la veine jugulaire gauche ou droite et a reçu une application de crème à base de lidocaïne (ANESDERM 5%®). Le délai d'attente pour assurer une anesthésie locale efficace était de 15 minutes. La prise de sang a été faite à la veine jugulaire à l'aide d'une contention usuelle et adaptée à l'animal.

c. Matériel utilisé

Un total de trois tubes (EDTA, héparine, sec) de 1 ml a été prélevé pour chaque animal après accord écrit du propriétaire (Annexe 2) et immédiatement transmis au laboratoire central de biologie médicale (LCBM) de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Chaque tube a été identifié selon la procédure mentionnée précédemment (p. 12). L'heure du prélèvement a été systématiquement notée sur la feuille d'accompagnement du chat.

5. Analyses

A leur arrivée au LCBM :

Le tube EDTA a fait l'objet d'une analyse hématologique de routine : mise en place sur l'agitateur, comptages cellulaires par l'automate d'hématologie du laboratoire (Sysmex XT 2000iV), réalisation d'un micro-hématocrite manuel et d'un frottis sanguin, examen du frottis sanguin.

Le tube hépariné et le tube sec ont été centrifugés selon la procédure du laboratoire. Le plasma a été utilisé pour la mesure des variables biochimiques du bilan de base et le sérum a permis la mesure de la SAA. Les prélèvements ont été placés dans des tubes Eppendorf, étiquetés avec le numéro d'étude, puis analysés selon les recommandations du fabricant pour les différentes variables. Le sérum et le reste du plasma ont été congelés à -80°C et stockés. La

concentration de la SAA a été mesurée, après décongélation, sur le SOLO (Scil animal care). Les analyses biochimiques autres ont été mesurées sur le Vitros (Siemens). Le Contrôle de qualité des analyses a été effectué conformément aux procédures standards du LCBM.

6. Interprétation des résultats– statistiques

Les résultats ont été regroupés dans fichier Excel et transmis par e-mail à C. Trumel et J.P. Braun. Les calculs statistiques ont été effectués par J.P. Braun grâce aux logiciels Excel®, Analyse-It® et Reference Value Advisor®.

II. Epidémiologie descriptive de l'étude

1. Répartition des âges des chats de l'étude

Une large proportion des chats présentés pour cette étude est jeune. En effet, 62,5 % d'entre eux ont entre 1 et 2 ans (25 cas sur 40). Le chat le plus âgé a 8 ans.

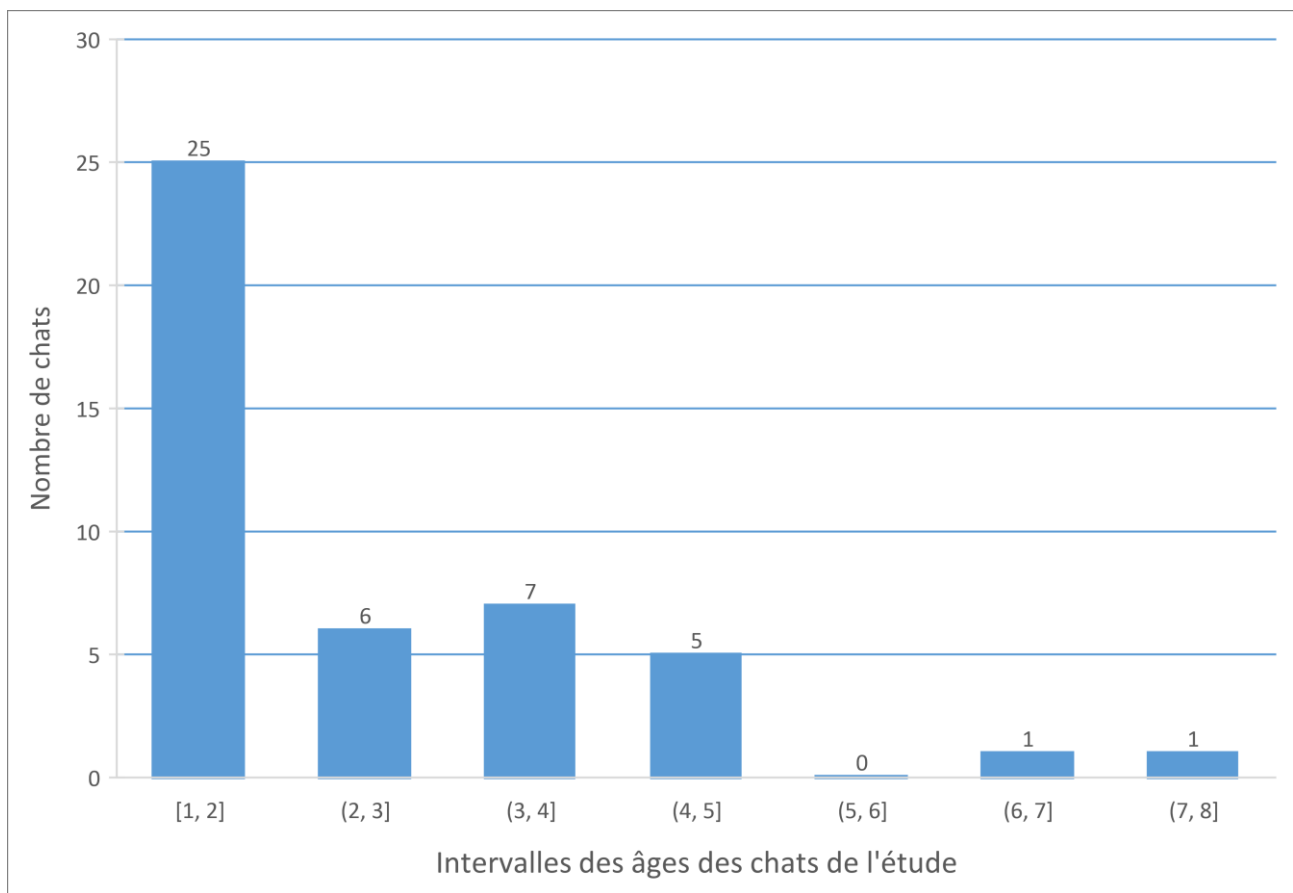


Figure 1 : Répartition des âges des chats de l'étude

2. Répartition des sexes des chats de l'étude

Les proportions de chats femelles et de chats mâles présentés pour cette étude sont proches : 53% de femelles contre 47 %de mâles.

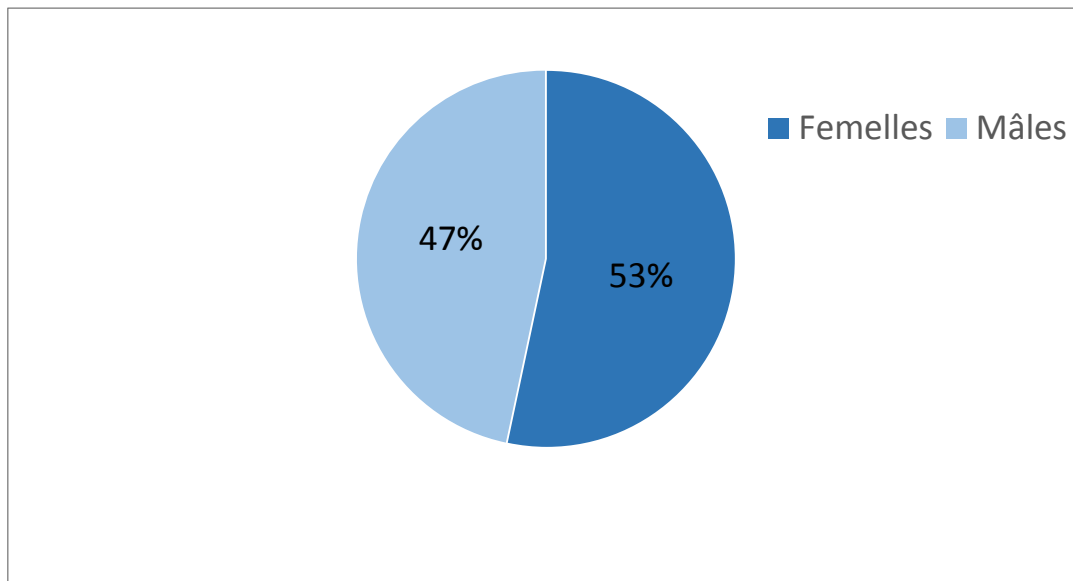


Figure 2 : Répartition des sexes des chats de l'étude

3. Répartition des statuts physiologiques des chats de l'étude

Une large proportion de chats présentés pour cette étude sont stérilisés (76% chats stérilisés).

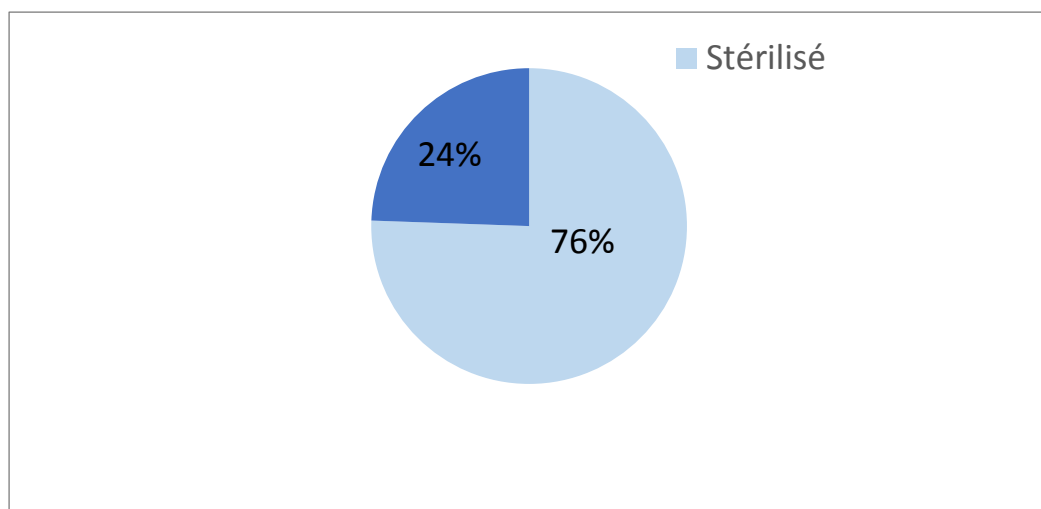


Figure 3 : Répartition des statuts physiologiques des chats de

4. Races des chats de l'étude

La plupart des chats de cette étude sont de type Européen. Un seul chat de race pure a été présenté (Main Coon) et deux chats sont de races pures croisées (Chartreux X Norvégien, X Main coon).

Tableau 1 : Races des chats présentés dans l'étude

Races des chats de l'études	Nombre de chats
Européens	41
Chartreux X Norvégien	1
Main coon	1
X Main coon	2

5. Nombre final de spécimens inclus dans l'étude

Au total, 45 propriétaires de chats se sont portés volontaires pour l'étude. Finalement, 40 chats ont été retenus pour établir les statistiques. Parmi les cinq cas exclus de l'étude, quatre présentaient des anomalies cliniques et/ou biologiques compris dans les critères d'exclusion établis au préalable. Concernant le dernier cas exclu de l'étude, un caillot sanguin s'est formé dans le tube de prélèvement EDTA ce qui n'a pas permis la réalisation du bilan biologique de base et a nécessité, par précaution, l'exclusion de ce cas de l'étude.

Tableau 2 : Chats non inclus dans l'étude

Numéros de dossiers exclus de l'étude	Cause d'exclusion
16	Valeur de GGT augmentée (9U/L)
18	Anémie + Souffle para-sternal systolique grade 3/6
23	Légère leucocytose neutrophilique
30	Valeur de GGT augmentée (8U/L)
40	Caillot dans le tube EDTA

III. Interprétation des résultats des dosages de SAA

D'après les valeurs de SAA obtenues (Annexe 3), les concentrations de SAA mesurées dans les 40 spécimens inclus dans l'échantillon de référence étaient toutes inférieures à 10 mg/L. Avec cet automate, la limite supérieure de l'intervalle de référence de la SAA chez le chat sain est donc < 10 mg/L.

IV. Discussion

1. Limites de l'étude

a. Limites relatives aux chats participants à l'étude

Le nombre total de cas inclus dans cette étude est réduit (n=40) ce qui amoindrit la précision des résultats finaux. Une étude similaire pourra être conduite, à l'avenir, à partir d'un échantillonnage plus important (≥ 120) et comparée avec les résultats de cette étude pour s'assurer de leur fiabilité.

D'autres part, la distribution des âges des chats est limitée ([1-8] ans), la valeur de la SAA n'a pas pu être évaluée sur des chats de plus de 8 ans. Or, il a été démontré que l'âge pouvait influencer la valeur de la SAA chez le chat ^[3].

La majorité des chats de l'étude sont stérilisés et vivent en intérieur. Nous ne pouvons pas nous prononcer vis-à-vis de l'influence du mode de vie et du statut physiologique des chats sur la valeur de la SAA.

A l'exception de 4 cas, tous étaient de races croisées (européen), or la valeur de SAA peut varier selon la race. En effet, il a été démontré que l'Abyssin, race prédisposée à l'amyloïdose rénale ^[10], a une concentration sérique de SAA supérieure à la moyenne. L'évaluation de la SAA par race de chat reste un sujet encore peu exploré.

Enfin, les propriétaires ayant été volontaires pour faire participer leurs chats à cette étude appartiennent à une population de milieu vétérinaire (étudiants ou personnels). Le statut sanitaire et le suivi médical des chats d'un tel milieu n'est pas représentatif de la population générale.

b. Limites relatives aux prélèvements sanguins

Certains facteurs pré-analytiques peuvent avoir influencé les valeurs finales des dosages de SAA. En effet, les chats étaient très souvent stressés par l'environnement de la clinique vétérinaire. De plus, la sensibilité à la crème anesthésique locale (ANESDERM 5%) appliquée avant chaque prélèvement était variable d'un animal à l'autre. Certains individus n'étaient pas réceptifs à l'anesthésie locale. Les prélèvements étaient donc moins tolérés et plus difficiles à réaliser sur les cas très stressés et peu réceptifs à l'application de lidocaïne locale. La quantité de sang récupérée a été réduite (<3ml) lors de prélèvements sur ces cas difficiles.

c. Limites relatives à la manipulation et analyse des spécimens

Toutes les variables hématologiques et biochimiques prises en compte dans cette étude ont été analysées le jour même du prélèvement sanguin à l'exception de la SAA. En effet, la calibration de l'automate (SOLO) n'était pas terminée lors de la période de collecte des échantillons sanguins. Il a été nécessaire de conserver les séra à -80°C en attendant que l'automate soit opérationnel. Bien que des études aient montré que la SAA peut être conservée réfrigérée au moins deux mois sans variation significative de sa concentration^[11]. Nous n'avons, à ce jour, pas de recul quant à l'effet de la congélation des sérums sur la valeur de SAA mesurée chez le chat.

Par ailleurs, deux séries de dosages de la SAA sur les spécimens ont été effectués. La double manipulation des séra a pu avoir un impact sur les résultats finaux obtenus.

V. Conclusion

Le dosage des protéines de la phase aiguë de l'inflammation présente de nombreux intérêts en médecine vétérinaire : diagnostic, pronostic, suivi thérapeutique, identification précoce de récurrence, de complication ou de pathologie subclinique. Parmi les différentes protéines de la phase aiguë de l'inflammation, la sérum amyloïde A (SAA) est une protéine majeure de l'inflammation chez le chat. La technique de dosage validée pour la SAA chez le chat (Eiken Immunoturbidimetric Method) a l'avantage d'être facile et relativement rapide à réaliser. Néanmoins, il est nécessaire de transiter par un laboratoire spécialisé pour le dosage de cette protéine via cette méthode. Grâce à l'utilisation du SOLO, un automate portable utilisant également la méthode immunoturbidimétrique, le dosage de la SAA devient plus accessible. En effet, le SOLO est un automate compact, rapide, facile d'utilisation et fonctionnant à partir d'une faible quantité de spécimen (5µl). Il devient alors possible d'obtenir une valeur de SAA directement en clinique vétérinaire avec le SOLO.

Cette étude a permis de définir un intervalle de référence de la SAA chez le chat sain à partir d'un petit échantillonnage d'individus (n=40). Chaque chat inclus dans cette étude a été rigoureusement sélectionné sur la base de critères d'inclusion et d'exclusion prédéfinis. La réalisation et la gestion des prélèvements a suivi un protocole strict et identique pour l'ensemble des spécimens afin de limiter au maximum les facteurs de variations pré-analytiques sur les résultats finaux.

A partir d'une population de 40 chats sains, les études statistiques menées ont permis d'obtenir une limite supérieure pour l'intervalle de référence de la SAA avec le SOLO < 10mg/L.

Une étude plus puissante avec un effectif plus important et une population de chats sains plus représentative de la population générale sera nécessaire afin de confirmer le résultat de cette étude voire d'obtenir un intervalle de référence plus précis.

Bibliographie

- [1] P.D. ECKERSALL, R. BELL. Acute phase proteins : biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*. 2010, 185, 25-27.
- [2] J.J. CERON, P.D. ECKERSALL, S.MARTINEZ-SUBIELA. Acute phase proteins in dogs and cats : current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*. 2005, 34, 85-99.
- [3] S.PLATRINIERI. The feline acute phase reaction. *The Veterinary Journal*. 2007, 177, 26-35.
- [4] T. KAJIKAWA, A. FURUTA, T. ONISHI, T. TAJIMA, S. SUGII. Changes in concentrations of serum amyloid A protein, a1-acid glycoprotein, haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery. *Veterinary immunology and immunopathology*. 1999, 68, 91-98.
- [5] R.K.C. KANN, J.M. SEDDON, J. HENNING, J. MEERS. Acute phase proteins in healthy and sick cats. *Research in Veterinary Science*. 2011, 93, 649-654.
- [6] H. MURATA, N. SHIMADA, M. YOSHIOKA. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*, 2004, 168, 28-40.
- [7] E. GAILLARD, M. AUMANN, V. LEYNAUD, JP. BRAUN, C. TRUMEL. Comparison of feline serum amyloid A (SAA) measurements assessed by a point-of-care test analyzer to a validated immunoturbidimetric method. *Comparative clinical Pathology*. 2017, DOI: 10.1007/s00580-017-2593-1.
- [8] A. GEFFRE, K. FRIEDICHS, K. HARR, D. CONC ORDET, C. TRUMEL, J.P. BRAUN. Reference Values : a review. *Veterinary Clinical Pathology*. 2009, 38, 288-298.
- [9] A. MOSCHOS, S. NATHER. La protéine amyloïde sérique A : un biomarqueur sensible pour la détection des réactions inflammatoires du cheval et du chat. *Diagnostic Update*. 2015, [en ligne]. Disponible sur : http://www.idexx.ch/pdf/fr/1505007-0515-CH-FR_Diagnostic-Update-SAA.pdf
- [10] SP. BARTOLA, JA. REITER, JB. CORNACOFF, GJ KOCIBA, MD. BENSO. Serum amyloid A protein concentration measured by radial immunodiffusion in Abyssinian and non-Abyssinian cats. *American Journal of Veterinary Research*. 1989, 50, 1414-1417.

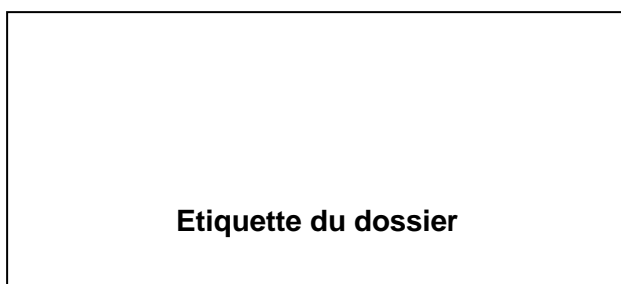
[11] A. HILLSTROM, H. TVEDTEN, I. LILLIEHOOK. Evaluation of an in-clinic Serum Amyloid A (SAA) assay and assessment of the effects of storage on SAA samples. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2010, 52, 8.

ANNEXES

Annexe 1 : Fiche d'accompagnement des prélèvements sanguins

	<p align="center">Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France ☎ : +33 561 193 295; mail : c.trumel@envt.fr</p>	<p align="center">Feuille d'accompagnement</p>
<p align="center">Etablissement de l'intervalle de référence de la Serum Amyloid A (SAA) mesurée par le SOLO® (Scil animal care) chez le chat</p>		<p align="center">Préparé par C. Trumel le 30/10/16</p>
V1	<p align="center">Corrigé le</p>	

Contact : Margot Grebert ou Marie Charlier (06 14 78 14 72)



N° ETUDE :

- Date du prélèvement : / / 201

- Heure du début du prélèvement : h

- Personne qui a prélevé :

- Enseignant responsable :


- Historique Médical :

- Examen clinique :

- Difficultés éventuelles à la réalisation des prélèvements : OUI NON
Tubes à prélever : EDTA, Héparine, sec

- Si oui : lesquelles ?

Annexe 2 : Fiche de consentement éclairé

	Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France ☎ : +33 561 193 295; mail : c.trumel@envt.fr	Annexe 1 FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ECLAIRE
Etablissement des intervalles de référence de la Serum Amyloid A (SAA) mesurée par le SOLO® (Scil animal care) chez le chat		

Étude effectuée à l'école Vétérinaire de Toulouse (ENVT).

L'objectif de cette étude est de réaliser un intervalle de référence chez le chat sain de la SAA avec le SOLO® (Scil animal care) à partir d'un faible effectif de 40 à 50 chats afin de faciliter la prise en charge du chat atteint d'une maladie inflammatoire.

Cette étude nécessite de prélever trois tubes de sang de 1mL chez votre chat. Cela ne cause pas davantage de douleur ou de risque pour la santé de votre chat que le prélèvement d'un ou de deux tubes.

Le bilan inflammatoire sera fait gratuitement.

.....
Je, soussigné(e)

Propriétaire du chat

Atteste avoir été clairement informé(e) des buts et moyens de l'étude envisagée

Atteste avoir lu le paragraphe précédent

Atteste avoir conscience du caractère facultatif de cette étude et de ma totale liberté de refuser ou d'accepter que mon chat rentre dans l'étude.

Et accepte que mon chat soit inclus dans l'étude

À Toulouse, le

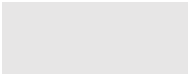
Signature

Etiquette du dossier

Annexe 3 : Résultats des dosages des spécimens sélectionnés

Numéro d'étude	Créatinine (µmol/L) [80-229]	Urée (mmol/l) [5,4-10,4]	PT (g/l) [55-71]	Alb (g/l) [27-39]	GGT (U/l) [0-5]	ALAT (U/l) [20-107]	Ht (%) [37-55]	GR (10 ⁶ /µL) [5,5-10]	GB (10 ³ /µL) [8-25]	SAA (mg/L)	Dates de prélèvements
1	135	8,8	70,7	35	<5	48	36,6	9,49	7,05	<10	14-févr
2	121,7	8,7	70,4		<5	52	34,1	9	5,27	<10	
3	128,6	9,4	78,9	36,3	<5	42	38,9	9,51	3,85	<10	
4	103,7	8,1	66,6	33,2	<5	30	29,3	6,84	11,78	<10	
5	71,7	7,9	74,9	35,4	<5	42	43,2	10,18	8,08	<10	07-mars
6	92,7	6,3	70,1	35,3	<5	44	37,6	10,86	12,49	<10	
7	113,4	8,4	78,9	37,9	<5	67	36,9	9,64	8,13	<10	
8	106	7	71,8	34,5	<5	54	37,7	9,25	12,35	<10	
9	96,2	8,3	73,6	30,4	<5	57	37,6	10,38	11,75	<10	14-mars
10	87,7	7,4	66,6	34,5	<5	69	30,9	9,19	9,88	<10	
11	116,5	8,8	62,8	29,7	<5	74	36,3	9,38	4,91	<10	
12	89,5	8,2	77	31,9	5	60	27,8	6,36	3,06	<10	
13	93	8,2	64,2	34	<5	62	35,5	9,01	6,01	<10	21-mars
14	98,2	7,5	68	33,8	<5	87	34,7	9,49	13	<10	
15	107	8,4	69,9	36,1	<5	53	39	9,03	10,22	<10	28-mars
16	143,7	9,1	81,7	36,4	9	50	41,2	7,52	8,61	NE	
17	93,8	7,6	71,4	35,7	<5	50	36	9,9	8,47	<10	04-avr
18	69,4	9	63,4	28,1	<5	36	27,7	7,41	13,73	NE	
19	86,8	9,7	67,1	36,9	5	59	37	8,79	7,45	<10	
20	78,4	8,5	73,4	35,1	<5	47	37,4	10,13	8,22	<10	
21	112,2	9	75,3	33,2	<5	35	39	9,05	11,23	<10	18-avr
22	131,9	7,1	68,8	33,2	<5	65	32,5	7,61	8,83	<10	
23	135,7	8,3	75,1	34,7	<5	43	34,4	8,35	13,45	NE	25-avr
24	136,1	10,6	66,2	32,6	<5	64	34,5	7,82	8,03	<10	
25	89,8	6,9	65,6	32,9	6	48	33,7	9,02	7,16	<10	
26	90,7	8,8	67,2	33,4	5	57	29,7	7,29	11,71	<10	
27	114	8,6	70,2	34,5	<5	40	36,6	10,19	10,98	<10	02-mai
28	87,4	7,9	65,2	33,1	<5	75	33,4	7,44	7,36	<10	
29	88,1	9,2	71,7	37	<5	44	36,7	9,72	9,38	<10	
30	86,6	9,8	76	38,6	8	67	36,6	9,37	8,15	NE	
31	88,2	7,8	70,7	31,9	<5	60	36,9	8,17	10,54	<10	09-mai
32	81	7,9	63,9	34,2	<5	69	40,4	10,42	9,13	<10	
33	123,7	8,7	71,2	33,5	5	50	35,9	9,37	6,88	<10	
34	89,1	7,1	67,7	32,8	<5	43	32,4	9,04	12,1	<10	
35	86	7,2	68,9	34,7	<5	47	34	8,95	8,94	<10	16-mai
36	82,6	7,5	63,5	29,4	<5	67	27,3	7,13	4,04	<10	
37	147,7	9,7	77,3	32,4	5	27	37,4	9,12	4,78	<10	
38	80,1	8,5	74,3	34,5	<5	68	37,8	9,06	9,43	<10	

39	144,7	8,1	73,4	34,8	<5	42	36,5	9,20	9,26	39,6	
40	140,4	8,4	72,9	34,1	<5	42	non analysable (caillot)			NE	
41	111,5	8,8	66,2	29,9	<5	40	35,8	8	6,11	<10	18-mai
42	112,3	9,3	70,4	34,5	8	38	34	9,21	5,51	12,4	
43	84,7	8,8	73	35,5	<5	80	34,9	9,07	7,95	30	
44	95	10,5	69,7	35,9	<5	60	36,9	8,9	17,08	<10	08-juin
45	91,1	9,4	69,3	33	<5	59	42,9	9,62	7,77	21,1	



Résultats non inclus dans l'étude 16; 18; 23; 30; 40;

Etablissement d'un intervalle de référence de la Sérum Amyloïde A chez le chat sain par le SOLO (Scil Animal Care).

NOM et Prénom : CHARLIER Marie

Directrice de thèse : TRUMEL Catherine

Résumé : La Sérum Amyloïde A (SAA) est un marqueur majeur de la phase aiguë de l'inflammation mesurable depuis peu sur un analyseur de paillasse utilisable en pratique vétérinaire. La méthode de dosage ayant été partiellement validée, il restait à déterminer l'intervalle de référence de la SAA chez le chat sain ce qui a été l'objectif de ce travail expérimental prospectif. Cette étude a montré que la valeur de la SAA chez le chat sain était inférieure à 10mg/L.

Mots-clé : intervalle de référence ; sang ; chat ; SAA ; inflammation ; protéines de la phase aiguë de l'inflammation

Healthy cat Serum Amyloid A reference value determination with the SOLO

Author: Marie CHARLIER

Abstract: Serum Amyloid A (SAA) is an acute phase protein which is now available in veterinary practice via a new benchtop analyzer. This method has been partially validated. The reference interval was not yet available and was the goal of this experimental study. The result of this study has shown that SAA in healthy cats was below 10mg/L.

Keywords: reference interval, blood, cat, Serum Amyloid A, inflammation, acute phase protein

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussignée, Catherine TRUMEL, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **CHARLIER Marie** intitulée « **Détermination d'un intervalle de référence de la Sérums Amyloïde A mesurée par le SOLO chez le chat sain** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.



Fait à Toulouse, le 2 juillet 2018
Professeure Catherine TRUMEL
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

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



Vu :
Le Président du jury :
Professeure Monique COURTADE SAÏDI



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL

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

Régine ANDRÉ-OBRECHT



Université
de Toulouse