



Open Archive Toulouse Archive Ouverte (OATAO)

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/> 23931

To cite this version:

Meric, Tristan. *Étude rétrospective des anomalies de nuages de points leucocytaires issus du Sysmex XT- 2000iV chez le chien.* Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 32 p.

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

ETUDE RETROSPECTIVE DES ANOMALIES DES NUAGES DE POINTS DES LEUCOCYTES DES HEMOGRAMMES DE CHIENS OBTENUS A PARTIR DU SYSMEX XT-2000IV

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

MERIC Tristan

Né, le 21 Février 1993 à TOULOUSE (31)

Directeur de thèse : Mme Catherine TRUMEL

JURY

PRESIDENT :

Mme Monique COURTADE-SAÏDI

Professeure à l'Université Paul Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Catherine TRUMEL

Mme Nathalie BOURGES-ABELLA

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITES :

M. Jean-Pierre BRAUN

Mme Laetitia PIANE

Professeur honoraire
Résidente en pathologie clinique et Chargée de consultation Laboratoire central de biologie
médicale à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE 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. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootchnie*
- 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° 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**, *Ophthalmologie 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 règlementées*
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*

A Madame la Professeure Monique COURTADE-SAÏDI

Professeure à l'Université Paul Sabatier

Praticien hospitalier

Histologie, Cytologie - Embryologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ma thèse,

Hommages respectueux.

A Madame la Professeure Catherine TRUMEL

Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Biologie médicale Animale et Comparée

Pour vos conseils toujours éclairés, votre disponibilité et votre grande gentillesse,

Sincères remerciements.

A Madame la Professeure Nathalie BOURGES-ABELLA

Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Histologie

Pour avoir accepté de prendre part à ce jury de thèse,

Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Jean-Pierre BRAUN

Professeur Honoraire

Pour l'aide précieuse et avisée que vous m'avez apportée dans ce travail,

Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Vétérinaire Laetitia Piane,

Résidente en Pathologie Clinique et chargée de consultation Laboratoire central de Biologie Médicale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pour vos conseils et votre soutien dans la réalisation de ce projet,

Sincères remerciements.

Table des matières

Liste des figures	4
Liste des abréviations	5
Introduction	6
I. Etude bibliographique	7
A. Présentation des analyseurs d'hématologie	7
1. Principes fondamentaux des automates d'hématologie	7
2. Le Sysmex XT-2000iV	9
B. Validations et erreurs des analyseurs d'hématologie	10
1. Validations et erreurs des analyseurs d'hématologie en médecine humaine	10
2. Validations et erreurs des analyseurs d'hématologie en médecine vétérinaire	12
II. Etude rétrospective	14
A. Matériel et méthodes	14
1. Personnes impliquées dans la réalisation de l'étude	14
2. Période et durée de l'étude rétrospective	14
3. Protocole de sélection des hémogrammes	14
4. Classement des hémogrammes	16
5. Détermination du champ de cette étude	17
6. Critères d'évaluation et de compréhension des nuages de points anormaux	17
B. Résultats	20
1. Etablissement des groupes de nuages leucocytaires anormaux	20
2. Les anomalies retrouvées dans les différents groupes	23
C. Discussion	25

1. Groupe A : mauvaise espèce attribuée à l'hémogramme	25
2. Groupe B : extension du nuage des lymphocytes vers le haut	26
3. Groupe C : extension du nuage des globules rouges non lysés vers la droite	27
4. Groupe D : extension du nuage des granulocytes éosinophiles vers le haut et vers la droite	28
Conclusion	30

Liste des figures

Figure 1 : Calque de nuages de points normaux réalisés sur la base d'hémogrammes qualifiés de normaux par 2 experts et 2 personnes naïves. **15**

Figure 2 : Groupe A : absence du nuage de points des granulocytes éosinophiles et présence d'un nouveau nuage. **20**

Figure 3 : Groupe B : présence de plus d'un point au-dessus de la 4ème graduation de fluorescence en ordonnées. **21**

Figure 4 : Groupe C : extension du nuage des globules rouges non lysés vers la droite et présence d'un "S" sur le diagramme "Baso". **22**

Figure 5 : Groupe D : extension du nuage de points des granulocytes éosinophiles vers le haut et vers la droite. **22**

Figure 6 : L'extension du nuage de points des granulocytes éosinophiles vers le haut et vers la droite peut avoir une continuité ou non avec le nuage des globules rouges non lysés. **29**

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

EDTA : acide éthylènediaminetétraacétique

FSC : forward scatter

GNB : granulocyte basophile

GNE : granulocyte éosinophile

GNN : granulocyte neutrophile

SFL : side fluorescence light

SSC : side scatter

Introduction

Les leucocytes, ou globules blancs, produits dans la moelle osseuse, circulent dans le sang et la lymphe et sont présents au sein des organes lymphoïdes et des tissus conjonctifs de l'organisme canin. Deux populations peuvent être distinguées : les granulocytes (anciennement appelés « polynucléaires »), et les agranulocytes (ou leucocytes mononucléés). Les granulocytes comprennent les granulocytes neutrophiles (GNN), éosinophiles (GNE) et basophiles (GNB). Les agranulocytes sont eux composés des lymphocytes et des monocytes. De nombreuses fonctions dans la défense contre les infections, infestations ou dérégulations cellulaires de l'organisme sont attribuées aux leucocytes : les GNN assurent en effet l'endocytose et la lyse des bactéries ; les granulations des GNE permettent une activité antiparasitaire et anti-inflammatoire, quand celles des GNB revêtent des propriétés vasoactives et anticoagulantes dans la médiation de l'inflammation. Les lymphocytes interviennent quant à eux dans les réactions immunitaires spécifiques à médiation immune ou humorale. Enfin, les macrophages opèrent lors de réactions immunitaires spécifiques comme non spécifiques via la phagocytose et la destruction bactérienne, la destruction des cellules tumorales, la réorganisation tissulaire lors de la cicatrisation, la présentation d'antigènes, ou encore l'activation d'autres leucocytes. Bastion de l'organisme, leur analyse dans le sang est donc source de précieuses informations pour les cliniciens.

Pour autant, l'interprétation des résultats de cette analyse reste très souvent partielle : les comptages cellulaires sont généralement les seuls chiffres auxquels les praticiens prêtent attention, délaissant la présentation des résultats sous forme de nuages de points ; la littérature à propos de ces graphiques faisant défaut de travaux systématiques, beaucoup d'erreurs d'interprétation sont en effet faites à leur égard.

C'est à ce constat que nous proposons de présenter dans un premier temps la façon dont sont analysés les leucocytes, avant de discuter des différentes validations et limites attribuées aux analyseurs d'hématologie par la communauté scientifique. Enfin seront exposés les résultats de notre étude, qui s'évertuera à déterminer les principales anomalies de nuages de points d'après l'ensemble des hémogrammes obtenus depuis le sang de chiens présentés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) entre les années 2014 et 2016 (N = 3352).

I. Etude bibliographique

A. Présentation des analyseurs d'hématologie

1. Principes fondamentaux des automates d'hématologie

Les analyseurs d'hématologie actuels allient principalement trois technologies : la centrifugation, l'impédance électronique et l'analyse du trajet de la lumière (1).

i. Centrifugation

Les diverses cellules sanguines ayant des densités différentes, la centrifugation du sang dans un tube à microhématocrite permet de les séparer selon différentes strates. De plus, un flotteur cylindrique, dont la densité spécifique se situe entre celle du plasma et celle des cellules de la lignée rouge, permet d'étaler la strate des leucocytes. La surface interne du tube capillaire est recouverte d'acridine orange, un tampon fluorescent qui colore notamment l'ADN, l'ARN, les lipoprotéines ou encore les glucosamines : les hématies ne sont pas colorées, les granulocytes apparaissent orangés, les lymphocytes et monocytes vert brillant, et les plaquettes jaune pâle. La fluorescence émise par les cellules dans le tube

permet alors d'accéder à une mesure des valeurs suivantes : le comptage des globules blancs totaux, des granulocytes, des lymphocytes/monocytes, des plaquettes et l'hématocrite exprimé en pourcentage.

ii. Impédance électronique

L'impédance électronique est un procédé proposé dans les années 1950 par Coulter, et toujours d'actualité. Les cellules sont de faibles conducteurs d'électricité. Si celles-ci sont donc suspendues dans une solution d'électrolytes, puis passées une à une à travers deux électrodes entre lesquelles circule un courant continu, le passage de chacune d'entre elles induit une variation du courant et donc de la conductance de la solution d'électrolytes. Cette variation de conductance est proportionnelle à la taille de la particule et en permet donc une mesure se basant sur l'amplitude de la pulsation créée.

Certains automates associent à cette technologie l'analyse par radiofréquence. La méthode de courant direct permet certes de mesurer la cellule entière, incluant le noyau et le cytoplasme, mais la radiofréquence, basée sur une méthode de courant alternatif, permet d'ajouter une information sur la taille de la cellule sur la base de sa densité globale (ce qui est sensiblement le reflet des densités nucléaire et granulaire). La combinaison des deux permet alors d'accéder à la taille de la cellule, la taille du noyau et donc au rapport nucléocytoplasmique.

Enfin, l'utilisation de réactifs de lyse cellulaire est une deuxième possibilité de combinaison à l'impédance électronique. Ces réactifs permettent de diminuer ou éliminer la membrane plasmique des cellules et laissent donc des noyaux « nus ».

iii. Analyse du trajet de la lumière

Les cellules peuvent être détectées et donc comptées en passant à travers un faisceau de lumière plutôt qu'à travers un courant électrique : c'est le principe

de la cytométrie en flux. Bien que de vieux automates utilisent des lampes à mercure ou halogènes, les lasers sont aujourd'hui les sources lumineuses les plus fréquemment choisies. Le rayon, au passage de chaque cellule dans une cellule de débit, est réfléchi, réfracté et diffracté. L'analyse de ces différentes déviations de la lumière permet une mesure du volume cellulaire, de la surface cellulaire, de la lobulation du noyau, et de la granularité cellulaire.

Les cellules de débit, constitué de quartz pour qu'elles soient transparentes et ne gênent donc pas le trajet lumineux, ont une forme à section décroissante qui permet l'accélération du liquide de gaine (assurant un flux laminaire) dans lequel les cellules baignent : cela permet le passage individuel de chacune d'entre elles.

2. Le Sysmex XT-2000iV

Après aspiration et dilution proportionnée du specimen sanguin de manière à obtenir une teneur prédéfinie, des réactifs de lyse suppriment les hématies et les plaquettes (2). L'automate Sysmex XT-2000iV analyse alors la formule leucocytaire grâce à une réaction cytochimique des globules blancs avec d'autres réactifs : les membranes cellulaires sont perforées de telle sorte qu'un fluorochrome (à base de polyméthine) puisse entrer dans la cellule et se lier aux acides nucléiques (3). S'en suit ensuite une analyse par fluoro-cytométrie en flux.

Chaque cellule passe alors devant un laser semi-conducteur dans la chambre de mesure. Trois signaux sont analysés pour séparer les différentes cellules : la diffusion frontale de la lumière (FSC : « forward scatter »), la diffusion latérale de la lumière (SSC : « side scatter ») et la fluorescence latérale de la lumière (SFL : « side fluorescence light »). Le volume de la cellule est corrélé à l'intensité de la diffusion frontale, quand la diffusion latérale apporte une information sur la taille du noyau ou sur les granulations. La fluorescence, elle, indique la quantité d'acide nucléique (ADN et ARN) de chaque cellule. Un

diagramme de dispersion (ou scattergram) est alors formé : les cellules y sont disposées selon leur SSC en abscisses, et leur SFL en ordonnées. Elles forment alors des populations similaires qui dessinent des « nuages de points » identifiables sur le diagramme, qui correspondent chacun à un type cellulaire : GNN, GNE, GNB, monocytes, lymphocytes, globules rouges non lysés.

B. Validations et erreurs des analyseurs d'hématologie

1. Validations et erreurs des analyseurs d'hématologie en médecine humaine

Les résultats des analyseurs d'hématologie humaine sont obtenus rapidement. Ils sont exacts et précis pour des spécimens issus de sujets sains. Pour autant, cela ne prévient pas de possibles résultats erronés d'origine pathologique, pré-analytique ou analytique (4).

i. Numération leucocytaire faussement diminuée

Une fausse leucopénie peut avoir plusieurs origines. Les neutrophiles peuvent s'agréger entre eux (incidence faible mais sans doute sous-estimée de 0,003% à 0,013%), sans qu'il n'y ait d'affection spécifique associée, de manière transitoire ou permanente, principalement en présence d'EDTA bien que ce soit également possible avec du citrate ou de l'héparine. Ces mêmes neutrophiles peuvent également s'agréger avec des plaquettes. Enfin, bien que le nombre de cas rapportés reste faible, les cellules lymphoïdes peuvent également s'agréger en présence d'EDTA notamment.

ii. Numération leucocytaire faussement augmentée

Une fausse leucocytose revêt de même plusieurs origines possibles. Les agrégats plaquettaires ou les plaquettes géantes peuvent être comptés en globules blancs pour les analyseurs. La présence d'érythroblastes, dont restent les noyaux après destruction de leur membrane plasmique par les agents de lyse, peut également créer une fausse numération leucocytaire augmentée, tout comme des globules rouges qui auraient résisté aux réactifs de lyse. De même, si l'aspiration du spécimen de sang n'est pas suffisante, des cryoglobulines peuvent cristalliser et fausser le comptage en passant pour des leucocytes. De plus, la présence de filaments de fibrine (généralement retrouvés lorsque la ponction veineuse s'avère difficile et que la coagulation commence avant que le spécimen ne soit mélangé à l'EDTA), de lipides, de micro-organismes (bactéries ou champignons qui peuvent s'agglomérer) ou encore de tissu adipeux sous-cutané en cas de ponction de la veine fémorale, peut augmenter de manière artéfactuelle le comptage leucocytaire. Enfin, le remplissage excessif des tubes sous vide induit une difficulté d'homogénéisation par l'absence de bulle d'air : une fausse leucocytose peut en résulter.

iii. Anomalies de formule leucocytaire

a. Nombre absolu de monocytes

La reproductibilité de la mesure est faible d'un automate à un autre : les résultats varient en effet de 13 à 59%. De plus, le comptage est très vite altéré par le temps de conservation, puisqu'on observe une augmentation ou une diminution des monocytes dès 6-10 heures de conservation quel que soit l'automate.

b. Nombre de granulocytes basophiles

Il existe une sous-estimation du nombre de basophiles quand celui-ci est augmenté. De plus, il faut interpréter de manière prudente un résultat élevé. Enfin, une petite augmentation du comptage est à noter sur des spécimens conservés plus de 24 heures avant analyse.

c. Anomalie de numération des éosinophiles

Dans certaines affections, des pigments retrouvés dans le sang dépolarisant les faisceaux lasers, très similaires aux granulations des éosinophiles, peuvent en fausser le comptage. De plus, une conservation de plus de 24 heures avant analyse peut induire une diminution de leur numération.

d. Conservation des spécimens sanguins

Lorsque la conservation des spécimens avant analyse dépasse 24h, on peut avoir une diminution du nombre de neutrophiles et des éosinophiles, une augmentation du nombre de monocytes, des lymphocytes et des basophiles. Il est à noter que les monocytes peuvent également diminuer.

2. Validations et erreurs des analyseurs d'hématologie en médecine vétérinaire

i. Comptage des leucocytes totaux (5)

Le comptage total des leucocytes par le Sysmex XT-2000iV est très corrélé avec le comptage du CELL-DYN 3500, automate déjà validé (6) et utilisé largement avant l'introduction du Sysmex XT-2000iV.

ii. Comptage différentiel des leucocytes (7)

Les nuages de points obtenus avec des spécimens de sang canin, que ce soit avec le CELL-DYN 3500 ou le Sysmex XT-2000iV, ne sont pas bien séparés.

De plus, les résultats sont nuls ou incomplets dans 13% des hémogrammes (message d'alerte « WBC abnormal scattergram »).

Le comptage des neutrophiles par le Sysmex XT-2000iV est très bien corrélé avec le comptage manuel, ou du CELL-DYN 3500. Mais lorsque la population des band cells parmi les neutrophiles excède 10%, les automates ne donnent pas de résultat ou des résultats erronés en comparaison avec le comptage manuel de référence.

Le comptage des lymphocytes par le Sysmex XT-2000iV est 10 à 26% supérieur au comptage manuel ou celui du CELL-DYN 3500. De plus, il identifie un petit groupe de cellules situé au-dessus des monocytes sur le diagramme de dispersion comme des lymphocytes : 34% des diagrammes manquent d'une claire séparation entre monocytes et lymphocytes, et 5% présente une erreur importante de non-séparation entre ces deux types cellulaires.

Il existe une bonne corrélation entre les comptages des monocytes du Sysmex XT-2000iV et du CELL-DYN, mais le comptage du Sysmex est inférieur à celui du CELL-DYN 3500 et supérieur au comptage manuel.

L'identification des éosinophiles par le Sysmex XT-2000iV est satisfaisante. La séparation du nuage de points des éosinophiles est bonne en comparaison aux autres automates. Toutefois, dans 15% des spécimens, le comptage du Sysmex XT-2000iV est plus de 100% supérieur à celui du CELL-DYN 3500 : dans ces cas-là, la séparation entre les éosinophiles et les neutrophiles reste difficile et engendre donc une erreur. Enfin, le Sysmex XT-2000iV, tout comme le CELL-DYN 3500, n'est pas capable de reconnaître les éosinophiles gris visibles sur des frottis sanguins.

La détection des basophiles, en cas de basophilie avérée par comptage manuel sur frottis sanguin observé au microscope, n'est pas assurée par les automates d'hématologie vétérinaire.

II. Etude rétrospective

A. Matériel et méthode

1. Personnes impliquées dans la réalisation de l'étude

L'étude a été effectuée et coordonnée par C. Trumel, L. Piane, T. Méric et M. Mignot :

- C. Trumel : préparation du protocole, sélection des hémogrammes, traitement des données et interprétation des résultats
- L. Piane, T. Méric, M. Mignot : préparation du protocole, sélection des hémogrammes, traitement des données, recherche des comptes-rendus cliniques et hématologiques, des frottis sanguins et interprétation des résultats
- Laboratoire de Biologie Médicale de l'ENVT : conservation des données (hémogrammes, frottis, comptes-rendus laboratoire)

2. Période et durée de l'étude rétrospective

Du 01/01/2014 au 31/12/2016.

3. Protocole de sélection des hémogrammes

- i. Critères d'inclusion

Les hémogrammes sélectionnés dans cette étude rétrospective devaient avoir été réalisés entre le 01/01/2014 et le 31/12/2016, devaient provenir de chiens, et devaient présenter au moins un nuage de points anormal sur le diagramme de dispersion de différenciation des leucocytes. Face à la difficulté de s'accorder sur les nuages de points normaux, les hémogrammes datant de l'année 2016 classés comme normaux par l'ensemble des deux experts (C. Trumel et L. Piane) et de deux personnes naïves (T. Méric et M. Mignot) ont été considérés pour déterminer les amplitudes normales des différents nuages de points. Ces données ont permis de réaliser un calque dessinant les nuages de points définis comme normaux (Figure 1), comme aide à la prise de décision pour classer de manière plus objective les nuages de points anormaux. Etaient considérés comme anormaux les diagrammes de dispersion dont les nuages de points leucocytaires présentaient :

- Au moins un nuage de points réduit
- Au moins un nuage surnuméraire
- Au moins une fusion de 2 nuages
- Au moins un nuage à morphologie anormale

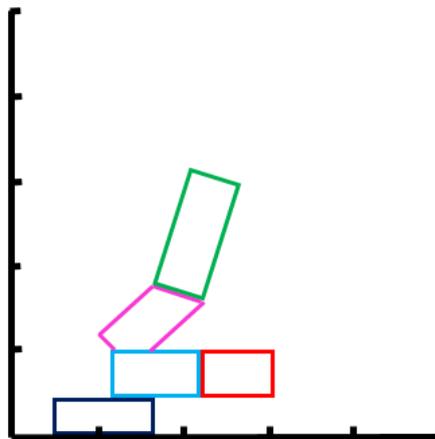


Figure 1 : calque de nuages de points normaux réalisés sur la base d'hémogrammes qualifiés de normaux par 2 experts et 2 personnes naïves.

Les différentes anomalies recensées ont ensuite été caractérisées et classées en conséquence dans différentes catégories.

ii. Critères d'exclusion

Etaient exclus de l'étude les hémogrammes suivants :

- Ceux pour lesquels l'automate avait mentionné le terme « Error »
- Ceux réalisés pour un contrôle externe
- Ceux réalisés à partir d'un autre liquide que le sang (exemple : épanchement)
- Face au grand nombre d'hémogrammes ne présentant qu'une unique anomalie, et à la difficulté d'interprétation des hémogrammes cumulant plus d'une anomalie, ces derniers ont été exclus de l'étude.
- Les nuages de points présentant une densité diminuée ou au contraire augmentée, mais dont la forme ou la position ne présentaient pas d'anomalie, ont également été écartés, car expliqués par une numération diminuée ou augmentée, informations déjà apportées par les numérations fournies par le Sysmex XT-2000iV.

4. Classement des hémogrammes

Groupe A : nuage surnuméraire.

Groupe B : extension des monocytes vers le haut.

Groupe C : extension des globules rouges non lysés vers la droite

Groupe D : extension des granulocytes éosinophiles vers le haut et vers la droite.

Groupe E : fusion de nuages de points.

- Sous profil 1 : « Menhir » ou fusion des granulocytes neutrophiles, lymphocytes et monocytes
 - Sous profil 1.1 : « Menhir » sans fusion avec les globules rouges non lysés
 - Sous profil 1.2 : « Menhir » avec fusion avec les globules rouges non lysés
- Sous profil 2 : fusion des globules rouges non lysés et des granulocytes neutrophiles
- Sous profil 3 : fusion des granulocytes neutrophiles et des lymphocytes
- Sous profil 4 : fusion des lymphocytes et des monocytes
- Sous profil 5 : fusion des granulocytes neutrophiles et des granulocytes éosinophiles

5. Délimitation du champ de cette étude

Cette étude s'attache à présenter les groupes A à D. Le dernier groupe sera exposé dans une étude future.

6. Critères d'évaluation et de compréhension des nuages de points anormaux

- i. Critères cliniques
 - Espèce
- ii. Critères biologiques
 - Globules rouges :
 - Morphologie (frottis sanguin) :
 - Anisocytose : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Hématies à bord flou : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Poikilocytose : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité

- Polychromatophilie : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
- Stress oxydatif : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
- Babésie : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
- Rouleaux : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
- Ghost cells : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
- Inclusion : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
- Numération des érythroblastes
- Globules blancs :
 - Morphologie (frottis sanguin) :
 - Granulocytes neutrophiles réactionnels : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Granulocytes neutrophiles hypersegmentés : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Band cells : présence/absence
 - Lymphocytes réactionnels : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Macrophages phagocytaires : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Monocytes réactionnels : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Granulocytes éosinophiliques dégranulés : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Granulocytes éosinophiliques réactionnels : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Granulocytes basophiles réactionnels : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Mastocytes circulants : présence/absence
 - Numération totale et des sous-populations (manuelle et par l'automate)
 - Globules blancs totaux (automate)

- Granulocytes neutrophiles (par l'automate et manuelle)
 - Band cells (par l'automate et manuelle)
 - Lymphocytes (par l'automate et manuelle)
 - Monocytes (par l'automate et manuelle)
 - Granulocytes éosinophiliques (par l'automate et manuelle)
 - Granulocytes basophiles (manuelle)
- Pourcentages des sous-populations (manuels et par l'automate)
 - Granulocytes neutrophiles (par l'automate et manuelle)
 - Band cells (par l'automate et manuelle)
 - Lymphocytes (par l'automate et manuelle)
 - Monocytes (par l'automate et manuelle)
 - Granulocytes éosinophiliques (par l'automate et manuelle)
 - Granulocytes basophiles (manuelle)
- Sous profil 2 du groupe B (extension des globules rouges non lysés vers la droite) : présence/absence d'un « S » dessiné par des points sur le diagramme de dispersion des basophiles
- Plaquettes :
 - Morphologie (frottis sanguin)
 - Anisocytose : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Plaquettes nucléées : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Plaquettes de grande taille : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
 - Agrégats plaquettaires (frottis sanguin) : 0, 0.5, 1, 2, 3 ou 4 selon l'intensité
- Fond de frottis sanguin
- Animaux du groupe C ayant également fait l'objet d'une biochimie avec dosage des triglycérides sanguins : présence/absence d'une hyperlipémie
- Animaux du groupe C ayant également fait l'objet d'une biochimie avec dosage des triglycérides sanguins : valeur de lipémie

B. Résultats

1. Etablissement des groupes de nuages leucocytaires anormaux

Parmi les 3352 hémogrammes recensés entre 2014 et 2016, 210 présentaient une unique anomalie de position. Les hémogrammes caractérisés par une anomalie unique de fusion de nuages de points seront l'objet d'une étude ultérieure.

i. Groupe A : nuage surnuméraire

Le groupe A rassemble les 2 diagrammes de dispersion définis par la présence d'un nouveau nuage de points dans le cadran haut droit et l'absence du nuage de points des éosinophiles (Figure 2).

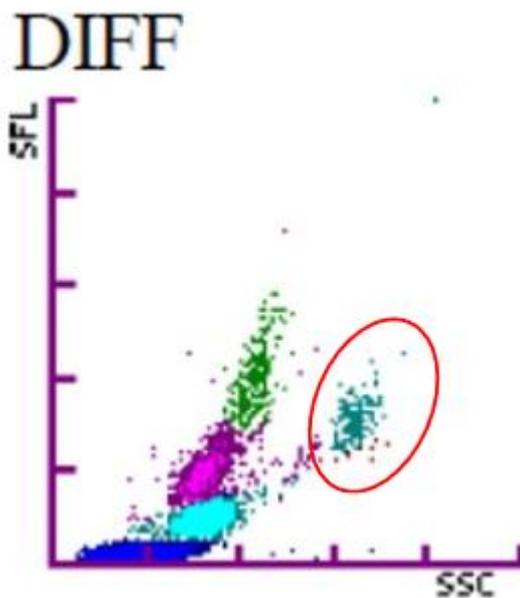


Figure 2 : Groupe A : absence du nuage des granulocytes éosinophiles et présence d'un nouveau nuage.

ii. Groupe B : extension des lymphocytes vers le haut

Le groupe B se compose des 89 diagrammes de dispersion avec extension des points du nuage des lymphocytes assez haut pour que plus d'un point se retrouvent au-dessus de la 4ème graduation de fluorescence en ordonnées (Figure 3).

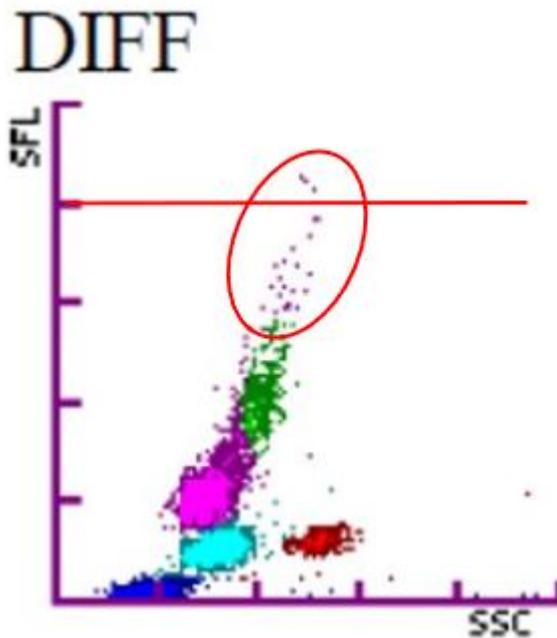


Figure 3 : Groupe B : présence de plus d'un point au-dessus de la 4ème graduation de fluorescence en ordonnées.

iii. Groupe C : extension des globules rouges non lysés vers la droite

Le groupe C est déterminé par les 92 diagrammes de dispersion montrant une extension du nuage de points des globules rouges non lysés vers la droite, associée ou non à la présence d'un "S" décrit par le nuage de points des basophiles.

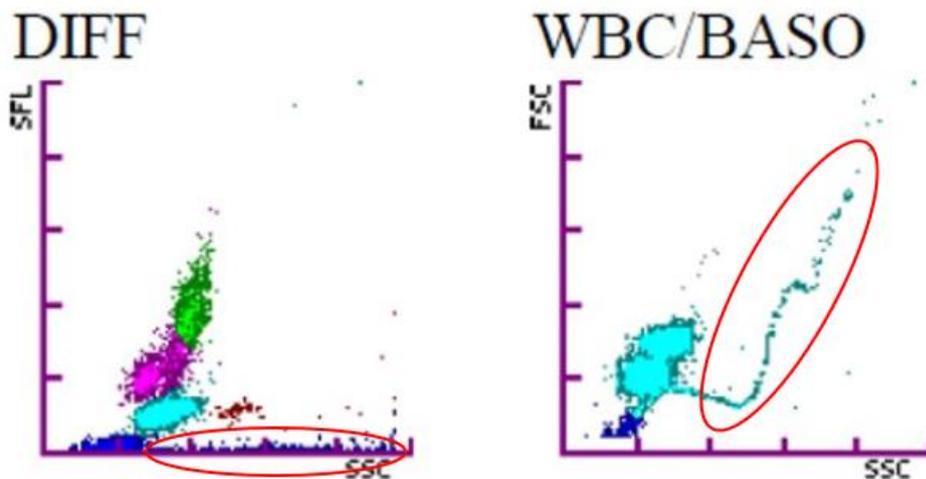


Figure 4 : Groupe C : extension du nuage des globules rouges non lysés vers la droite et présence d'un "S" sur le diagramme "Baso".

iv. Groupe D : extension des granulocytes éosinophiles vers le haut et vers la droite

Les 27 diagrammes de dispersion qui forment le groupe D présentent une extension du nuage de points des éosinophiles vers le haut et vers la droite.

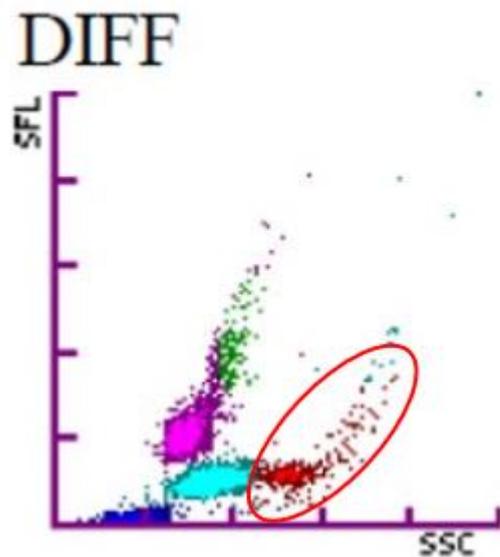


Figure 5 : Groupe D : extension du nuage des éosinophiles vers le haut et vers la droite.

2. Les anomalies retrouvées dans les différents groupes

i. Groupe A

Les deux diagrammes de dispersion sans nuage de points des granulocytes éosinophiles mais avec un nuage surnuméraire dans le cadran haut droit sont issus de chats mais identifiés comme des chiens.

ii. Groupe B

Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée entre les 3 différents groupes B, C et D, pour chaque variable clinique ou biologique. Le groupe A n'a pas été inclus car de trop petite taille (échantillon seulement de 2 diagrammes de dispersion). Les ANOVA montrant un résultat significatif ($p < 0,05$) pour un groupe en comparaison aux deux autres groupes pris séparément, et une non différence entre les deux autres groupes, ont été identifiées comme des résultats significatifs.

Les diagrammes de dispersion du groupe B ont été significativement associés à une numération plus grande des globules blancs par le Sysmex XT-2000iV en comparaison aux groupe C et D (ANOVA B versus C : $p = 0,000$; B versus D : $p = 0,005$; C versus D : $p = 0,997$), à une présence plus grande de lymphocytes réactionnels (ANOVA B versus C : $p = 0,000$; B versus D : $p = 0,000$; C versus D : $p = 0,941$), à une numération manuelle augmentée de lymphocytes (ANOVA B versus C : $p = 0,000$; B versus D : $p = 0,007$; C versus D : $p = 0,883$), à une numération de l'automate augmentée des lymphocytes (ANOVA B versus C : $p = 0,000$; B versus D : $p = 0,003$; C versus D : $p = 0,663$), à une numération de l'automate augmentée des monocytes (ANOVA B versus C : $p = 0,000$; B versus D : $p = 0,000$; C versus D : $p = 0,721$), à un pourcentage

augmenté de monocytes parmi les globules blancs donné par l'automate (ANOVA B versus C : $p = 0,000$; B versus D : $p = 0,001$; C versus D : $p = 0,620$), et à un pourcentage diminué des granulocytes éosinophiles parmi les globules blancs donné par l'automate (ANOVA B versus C : $p = 0,010$; B versus D : $p = 0,001$; C versus D : $p = 0,257$). De même, le pourcentage des monocytes obtenu par le Sysmex XT-2000iV est significativement supérieur à celui obtenu manuellement pour le groupe B en comparaison avec les groupes C et D (ANOVA B versus C : $p = 0,006$; B versus D : $p = 0,000$; C versus D : $p = 0,146$).

iii. Groupe C

Les diagrammes de dispersion du groupe C ont été significativement associés à un pourcentage obtenu manuellement augmenté des granulocytes éosinophiles parmi les leucocytes au frottis (ANOVA B versus C : $p = 0,013$; B versus D : $p = 0,870$; C versus D : $p = 0,041$). On observe de même que dans 85 des 92 diagrammes de dispersion qui constituent le groupe C (soit dans 92% des cas), le nuage de points dessiné par les granulocytes basophiles décrit un "S". Enfin, pour 7 chiens parmi les 92 qui ont donné les diagrammes de dispersion du groupe C, un dosage des triglycérides a été réalisé : 4 d'entre eux étaient en hyperlipémie contre 3 normolipémiques (intervalle de référence compris entre 0,2 et 1,3 mmol/L).

iv. Groupe D

Les diagrammes de dispersion du groupe D ont été significativement corrélés en comparaison aux groupe B et C à une augmentation de la présence de rouleaux

de globules rouges (ANOVA B versus C : $p = 0,996$; B versus D : $p = 0,020$; C versus D : $p = 0,023$), et à la présence augmentée d'agrégats plaquettaires (ANOVA B versus C : $p = 0,399$; B versus D : $p = 0,000$; C versus D : $p = 0,000$). De même, le pourcentage des granulocytes éosinophiliques parmi la population de globules blancs est significativement plus grand quand donné par l'automate que manuellement pour le groupe C en comparaison avec les groupes B et D (ANOVA B versus C : $p = 0,999$; B versus D : $p = 0,000$; C versus D : $p = 0,000$).

V. Discussion

1. Groupe A : mauvaise espèce attribuée à l'hémogramme

Les deux seuls hémogrammes du groupe A n'ont pas été attribués à la bonne espèce, puisque indiquant appartenir à des chiens mais étant issus de chats.

Le nuage de points matérialisé par les granulocytes éosinophiles, chez le chat, se situe plus haut et plus à droite que chez le chien. Cela explique donc, au sein du groupe A, l'absence du nuage de points habituellement rencontré à droite de celui des granulocytes neutrophiles chez le chien, et la présence d'un "néo-nuage" dans le cadran haut droit.

L'espèce est attribuée manuellement aux hémogrammes par les opérateurs du laboratoire pour choisir le programme que doit exécuter le Sysmex XT-2000iV. Le groupe A rassemble donc les hémogrammes ayant fait l'objet d'une erreur de saisie de l'espèce.

2. Groupe B : extension des lymphocytes vers le haut

Les diagrammes de dispersion du groupe B possèdent des points au-dessus de la 4ème graduation de fluorescence en ordonnées et reconnus par l'automate comme étant des lymphocytes.

Cette extension vers le haut traduit la présence de cellules ayant une fluorescence importante et donc une quantité augmentée d'acide nucléique.

La présence en plus grand nombre de lymphocytes réactionnels est corrélée à cette anomalie du groupe B. La stimulation antigénique des récepteurs de surface des lymphocytes induit une séquence d'évènements cellulaires dont la synthèse d'ADN et d'ARN ; la présence de ces points situés en région haute du diagramme de dispersion pourrait donc être la conséquence de lymphocytes réactionnels présents en grand nombre (8).

Parmi les autres données statistiques significatives, on peut mentionner des augmentations de la numération lymphocytaire manuelle et par le Sysmex XT-2000iV. L'augmentation du nombre de cellules d'une population peut augmenter les chances d'observer des points "aberrants" en quantité normalement négligeable. Il est par ailleurs envisageable que cette lymphocytose soit une co-anomalie de la présence de lymphocytes réactionnels, dans le cadre d'une stimulation antigénique ou de cellules néoplasiques, qui expliqueraient à eux-seuls la présence de ces points observés plus hauts.

Les statistiques montrent également une augmentation significative de la numération et du pourcentage des monocytes donnés par l'automate. Mais elles montrent de même une différence significative entre les numérations et les pourcentages proposés d'une part manuellement, d'autre part par le Sysmex XT-2000iV. Comme rapporté dans la partie 2 de cet exposé à propos de la validation de l'automate, un comptage plus élevé des monocytes par le Sysmex

XT-2000iV en comparaison à un comptage manuel est connu (7). Le comptage manuel faisant référence, on ne peut donc pas conclure si l'anomalie du groupe B est réellement associée à une augmentation du nombre et du pourcentage de monocytes parmi les globules blancs, ou si ce n'est que le reflet d'une surestimation des monocytes par le Sysmex XT-2000iV.

En conclusion pour le groupe B, l'extension du nuage de points des lymphocytes au-dessus de la 4ème graduation en ordonnées est associée significativement à une numération leucocytaire augmentée et une présence en plus grand nombre de lymphocytes réactifs, témoins d'une stimulation antigénique ou de cellules tumorales.

3. Groupe C : extension du nuage des globules rouges non lysés vers la droite

Le groupe C se compose des diagrammes de dispersion présentant une extension du nuage de points des globules rouges non lysés vers la droite, et pour 92% d'entre eux une forme de "S" est observée sur le diagramme "Baso".

La ligne horizontale anormale à droite des globules rouges non lysés est construite par des particules de fluorescence très similaire puisque d'ordonnée très proche sur le diagramme. Les abscisses de ces points sont quant à elles très variées, montrant une hétérogénéité de leur volume.

Cette anomalie a été associée dans cette étude pour 4 des 7 chiens qui ont bénéficié du dosage des triglycérides sanguins à une hyperlipémie. Les chylomicrons circulant dans le sang peuvent expliquer les particules de fluorescence homogène et de taille différente à l'origine de la ligne horizontale anormale. Cette corrélation a déjà été faite pour des automates d'hématologie vétérinaire (9), expliquée par l'indice de réfraction similaire des particules

lipidiques et de celle des plaquettes. Cette même publication pointe la présence d'une silhouette particulière du nuage de points des granulocytes basophiles, en forme de "S". En médecine humaine, les mêmes observations sont faites : une étude compare les diagrammes de dispersion issus d'un mélange de sang de patients sains et d'une émulsion de graisse à un groupe témoin, et met notamment en évidence cette silhouette particulière qu'elle compare à des profils "Lissajous-like" (10). Ces profils sont obtenus à partir de la diffraction de la fluorescence par des sphères homogènes de taille différentes, comme c'est le cas pour des billes de polystyrène auxquelles s'appliquent la théorie de Lorenz-Mie (11). Cette même théorie serait applicable aux gouttes de lipides.

Les statistiques montrent par ailleurs pour ce même groupe C une augmentation significative du pourcentage des éosinophiles obtenu manuellement, mais nous n'avons pas trouvé de justification à ce résultat.

4. Groupe D : extension du nuage des granulocytes éosinophiles vers le haut et vers la droite

Les diagrammes de dispersion recensés dans le groupe D montrent tous une extension du nuage de points des granulocytes éosinophiles vers le haut et vers la droite.

Cette extension du nuage de points est corrélée d'une part à la présence d'agrégats plaquettaires. Une image similaire est connue lors d'agrégats plaquettaires sur le Sysmex XE-2100 en humaine, mais il ne s'agit non pas du nuage de points des éosinophiles mais celui des globules rouges non lysés qui est étendu vers le haut et vers la droite, avec une continuité depuis le nuage de points des globules rouges non lysés (12). On note effectivement que certains des diagrammes de dispersion du groupe montrent une continuité entre l'extension du nuage des éosinophiles et le nuage des globules rouges non lysés, mais la majorité dévoile une discontinuité.

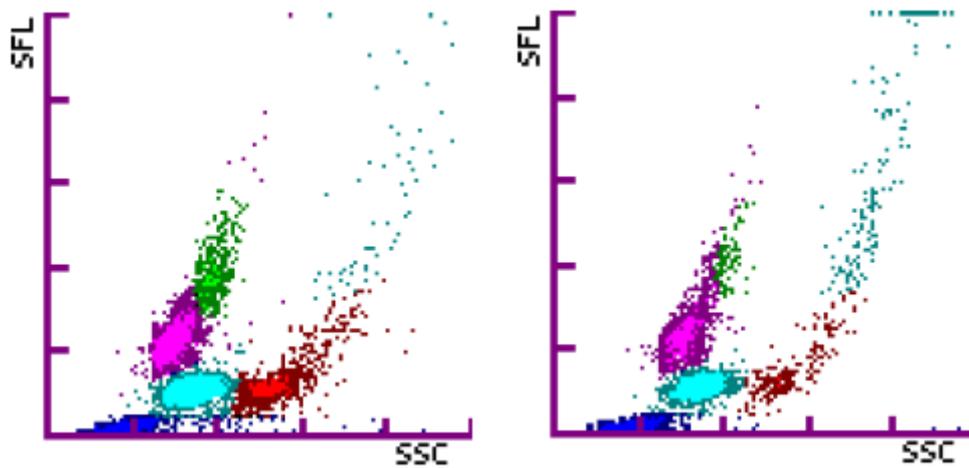


Figure 6 : L'extension du nuage de points des granulocytes éosinophiles vers le haut et vers la droite peut avoir une continuité ou non avec le nuage des globules rouges non lysés.

Une étude issue de la médecine humaine montre des images similaires lors d'agrégation plaquettaire : une extension des points des éosinophiles vers le haut et la droite et une continuité avec le nuage des globules rouges non lysés y sont également notées (13). L'objectif de cette étude était de définir la performance diagnostique des anomalies graphiques en comparaison au frottis sanguin pour les agrégats plaquettaires, à partir de 300 cas de thrombopénies ; la sensibilité trouvée de la présence de ces anomalies sur le diagramme de dispersion pour le diagnostic d'agrégats plaquettaires n'était que de 12%, malgré une bonne spécificité de 96,5%. Le caractère rétrospectif de notre étude ne permet pas d'approcher des performances diagnostiques chez le chien, mais si l'on émet l'hypothèse qu'elles sont comparables à la médecine humaine, elles ne permettent pas de s'affranchir du frottis sanguin pour déceler la présence d'agrégats plaquettaires.

D'autre part, les anomalies graphiques du groupe D ont été associées significativement à la présence de rouleaux de globules rouges. Les amas de globules rouges et les amas de plaquettes sont considérés comme similairement traités par le Sysmex XT-2000iV. Ces anomalies graphiques incluent donc dans le diagnostic différentiel des agrégats plaquettaires et des rouleaux d'hématies.

Enfin, le groupe D est corrélé à une augmentation du pourcentage de granulocytes éosinophiliques par le Sysmex XT-2000iV parmi la population de globules blancs. Les agrégats plaquettaires, ou les rouleaux d'hématies, qui sont comptés comme des granulocytes éosinophiliques par l'automate viennent gonfler artificiellement leur nombre, augmentation que l'on ne retrouve d'ailleurs pas lors du comptage manuel.

Conclusion

Au cours des années 2014 à 2016, 210 hémogrammes de chiens parmi les 3352 réalisés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse sur l'automate Sysmex XT-2000iV présentaient une unique anomalie de position d'un nuage de points sur le diagramme de dispersion. L'analyse statistique, bien que réalisée entre les différentes catégories d'anomalies graphiques des diagrammes de dispersion et non en comparaison à un diagramme de dispersion normal non disponible au moment de l'étude, a permis malgré tout de dégager des corrélations significatives entre anomalies graphiques et anomalies biologiques.

Une lymphocytose, la présence de lymphocytes réactionnels, une hyperlipémie, la présence d'agrégats plaquettaires ou encore de rouleaux d'hématies sont susceptibles de modifier la topographie habituelle des nuages de points de leucocytes ; la détection de ces anomalies graphiques doit donc faire partie de l'interprétation d'un hémogramme par le clinicien, puisqu'elle peut apporter des informations supplémentaires et complémentaires à l'analyse chiffrée.

La rétrospectivité de cette étude ne permet pas de mesurer les performances diagnostiques de ces anomalies graphiques, mais les études prospectives notamment réalisées en médecine humaine donnent une sensibilité limitée et invitent le clinicien à ne pas s'affranchir de la lecture et l'interprétation des frottis sanguins.

Bibliographie

- (1) WEISS, Douglas et WARDROP, Jane. Schalm's Veterinary Hematology, 6th Edition. Oxford : Wiley-Blackwell, 2010. ISBN 978-0-813-81798-9
- (2) Fluoro-cytométrie en flux – Sysmex France [consulté le 18 août 2017]. Disponible à l'adresse : www.sysmex.fr/academie/technologie/fluoro-cytometrie-en-flux.html
- (3) TVEDTEN, Harold et LILLIEHOOK, Inger. Canine differential leukocyte counting with the CellaVision DM96Vision, Sysmex XT-2000iV, and Advia 2120 analyzers and a manual method. *Veterinary Clinical Pathology*, 2011. 40/3, pp. 324-339.
- (4) ZANDECKI, Marc, GENEVIEVE, Franck, GERARD, Justin et GODON, Alban. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. *International journal of laboratory hematology*, 2007. 29/1, pp. 21-41.
- (5) LILLIEHOOK, Inger et TVEDTEN, Harold. Validation of the Sysmex XT-2000iV hematology system for dogs, cats, and horses. I. Erythrocytes, platelets, and total leukocyte counts. *Veterinary Clinical Pathology*, 2009. 38/2, pp. 163-174.
- (6) LILLIEHOOK, Inger. Evaluation of CELL-DYN 3500, a haematological instrument adapted for testing animal samples. *Sven Veterinartidning*, 1998. 50, pp. 643-648.
- (7) LILLIEHOOK, Inger et TVEDTEN, Harold. Validation of the Sysmex XT-2000iV hematology system for dogs, cats, and horses. II. Differential leukocyte counts. *Veterinary Clinical Pathology*, 2009. 38/2, pp. 175-182.
- (8) NAIRN, Richard et ROLLAND, Jennifer. Fluorescent probes to detect lymphocyte activation. *Clinical and experimental Immunology*, 1980. 39, pp. 1-13
- (9) GODON, Alban, GENEVIEVE, Franck, MARTEAU-TESSIER, Anne, ZANDECKI, Marc. Automated hematology analysers and spurious counts. Part 3. Haemoglobin, red blood cells, cell count and indices, reticulocytes. *Annales de biologie clinique*, 2012. 70/2, pp. 155-168.

- (10) TANAKA, Y, MATSUSHITA, H, TANAKA, Y, MARUKI, Y, HAYASHI, F, KONDO, T, ASAI, S et MIYACHI, H. Letter to the editor. *International Journal of Laboratory Hematology*, 2014. 36, pp. 50-54.
- (11) DOORNBOS, RMP, HOEKSTRA, AG, DEURLOO, KEI, DE GROOTH, BG, SLOOT, PMA et GREVE, J. Lissajous-like patterns in Scatter Plots of Calibration Beads. *Cytometry*, 1994. 16, pp. 236-242.
- (12) GODON, Alban, GENEVIEVE, Franck, MARTEAU-TESSIER, Anne, ZANDECKI, Marc. Automated hematology analysers and spurious counts. Part 1. Platelets. *Annales de biologie clinique*, 2010. 68/4, pp. 393-407.
- (13) SASSI, M, DIBEJ, W, ABDI, B, ABDERRAZAK, F, HASSINE, M et BABBA, H. Diagnostic performance of graphical anomalies in the detection of large platelets and platelets clumps. *Pathologie Biologie*, 2015.

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 **Tristan MERIC** intitulée « **Etude rétrospective des anomalies des nuages de points des leucocytes des hémogrammes de chiens obtenus à partir du Sysmex XT-2000iV** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 28 Août 2018
Professeure Catherine TRUMEL
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Président du jury :
Professeure Monique COURTADE-SAÏDI



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



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 ANDRE-OBRECHT



AUTEUR : MÉRIC Tristan

TITRE : Étude rétrospective des anomalies de nuages de points leucocytaires issus du Sysmex XT-2000iV chez le chien

DIRECTRICE DE THÈSE : TRUMEL Catherine

RÉSUMÉ : L'hémogramme est un examen complémentaire couramment utilisé par les praticiens vétérinaires, mais leur interprétation souvent restreinte à la lecture des résultats chiffrés conduit à une analyse incomplète si ce n'est erronée. La présente étude s'est efforcée, à l'appui de 210 parmi les 3352 hémogrammes de chiens réalisés entre 2014 et 2016 à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, de dégager différentes anomalies positionnelles des nuages de points des diagrammes de dispersion. Ces anomalies graphiques ont été analysées statistiquement, et corrélées à des anomalies biologiques variées comme la présence de lymphocytes réactionnels, d'une hyperlipémie, d'agrégats plaquettaires ou encore de rouleaux d'hématies.

Mots-clés : leucocyte, chien, hémogramme, nuage de points, Sysmex XT-2000iV, lymphocytes réactionnels, hyperlipémie, agrégats plaquettaires, rouleaux d'hématies

TITLE: Retrospective study on abnormal leukocyte scattergrams of the dog obtained by the Sysmex XT-2000iV

ABSTRACT: The complete blood count is commonly used by veterinarians, but their interpretation is often limited to the analysis of the figures and leads to incomplete if not false results. We attempted in this study, from 210 out of the 3352 complete blood counts which were available between 2014 and 2016 in the National Veterinary School of Toulouse, to present different categories of abnormal scattergrams. These graphic abnormalities were statistically investigated, and correlated to diverse biological anomalies such as reactive lymphocytes, hyperlipemia, platelet aggregates or red blood cell rouleaux.

Key-words: leukocyte, dog, complete blood count, scattergram, Sysmex XT-2000iV, reactive lymphocytes, hyperlipemia, platelet aggregates, red blood cell rouleaux