




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/> 25620

To cite this version:

Reberol, Laurie . *Étude des facteurs influençant la différence de numération des leucocytes entre le canal baso-WBC et le canal diff-WBC du système XT-2000iV sur le sang chez le chien*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2019, 102 p.

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

ÉTUDE DES FACTEURS INFLUENÇANT LA DIFFERENCE DE NUMERATION DES LEUCOCYTES ENTRE LE CANAL BASO-WBC ET LE CANAL DIFF-WBC DU SYSTEME XT- 2000IV SUR LE SANG CHEZ LE CHIEN

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

par

Laurie REBEROL

Née, le 15 octobre 1993 à Le Creusot (71)

Directeur de thèse : Mme Catherine TRUMEL

JURY

PRESIDENT :

Mme Monique COURTADE-SAIDI

Professeure à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Catherine TRUMEL

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme Nathalie BOURGES-ABELLA

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur par Intérim : **Monsieur Frédéric BOUSQUET**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- 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

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*

- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
 M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
 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*
 Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
 M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
 M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

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 **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
 M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
 M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
 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*
 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*
 Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- Mme **BORDE DORE Laura**, *Médecine interne des équidés*
 M. **GIANSETTO Thomas**, *Chirurgie*
 M. **JOLIVET Franck**, *Médecine interne*
 Mme **LECRU Line**, *Dermatologie*
 M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*
 Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophthalmologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
 M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
 M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
 M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
 M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
 M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*

REMERCIEMENTS

À Madame la Professeure Monique COURTADE-SAÏDI,

Professeure des Universités

Praticien hospitalier - CHU de Toulouse - Hôpital Purpan

Anatomie et cytologie pathologique

Qui nous fait l'honneur d'accepter de présider notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

À Madame la Professeure Catherine TRUMEL,

Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Biologie médicale

Qui nous fait l'honneur d'accepter la direction de cette thèse.

Pour avoir su m'orienter avec pertinence vers le thème de cette thèse et m'avoir encadrée avec bienveillance tout au long de sa réalisation.

Pour sa gentillesse, sa patience, sa pédagogie et son investissement, très sincères remerciements.

À Madame la Professeure Nathalie BOURGES-ABELLA

Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Histologie

Qui nous fait l'honneur de prendre part à notre jury de thèse.

Très sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	5
TABLE DES MATIERES	6
LISTE DES ABREVIATIONS	7
LISTE DES FIGURES.....	9
LISTE DES ANNEXES	11
INTRODUCTION GENERALE	12
PARTIE I : LES METHODES DE MESURE DES LEUCOCYTES AVEC LE SYSMEX XT-2000IV	13
A. LE SYSMEX XT-2000IV	13
B. DELTA WBC.....	17
PARTIE II : ETUDE RETROSPECTIVE	20
A. MATERIEL ET METHODE	20
1) <i>Personnes impliquées dans la réalisation de l'étude</i>	20
2) <i>Période et durée de l'étude rétrospective</i>	20
3) <i>Protocole de sélection des hémogrammes</i>	20
a- Critères d'inclusion	20
b- Critères d'exclusion	20
c- Extraction des données PDF	21
d- Vérification des données	21
e-Analyses des données.....	21
B. RESULTATS.....	21
1) <i>Etude analytique</i>	21
2) <i>Etude synthétique (Tableau 1)</i>	27
DISCUSSION.....	30
CONCLUSION	37
REFERENCES	39
ANNEXES	42

LISTE DES ABRÉVIATIONS

EOS Eosinophiles

HGB Hemoglobine

HCT Hematocrite

MPV Volume moyen plaquettaire

LYMPH Lymphocytes

MCH Mean corpuscular hemoglobin : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

MCHC Mean corpuscular hemoglobin concentration : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

MCV Mean corpuscular volume : volume globulaire moyen

MONO Monocytes

NEUT Neutrophiles

PCT Plateletcrit : indice plaquettaire

PCV Packed cellular volume : rapport entre le volume occupé par les globules rouges et le volume de sang total

PDW Platelets distribution width : indice de distribution des plaquettes

P-LCR Platelets large cell ratio : ration entre les plaquettes d'un volume supérieur à 12 fL et le nombre total de plaquettes.

PLT-I Platelets measured with impedance method : plaquettes mesurées avec une méthode d'impédance

PLT-O Platelets measured with optical method : plaquettes mesurées avec une méthode optique

RBC-I Red blood cells measured with impedance method : hématies mesurées avec une méthode d'impédance

RBC-O Red blood cells measured with optical method : hématies mesurées avec une méthode d'impédance

WBC White blood cells : leucocytes

BASO – WBC White blood cells measured with cytometry method : leucocytes mesurés avec une méthode de cytométrie en flux

DIFF – WBC White blood cells measured with flurocytometry method : leucocytes mesurés avec une méthode de fluorocytométrie en flux

$$\Delta \text{ WBC} = \frac{\text{DIFF} - \text{WBC}}{\text{BASO} - \text{WBC}}$$

µm Micromètre

µl Microlitre

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : EVOLUTION DES GLOBULES BLANCS APRES LA REACTION AVEC LE STROMATOLYSER FB (SYSMEX CORPORATION SINGAPOUR 2014)	13
FIGURE 2 : DIAGRAMME DE DISPERSION DU CANAL WBC- BASO DE L'ANALYSEUR SYSMEX XT	14
FIGURE 3 : EVOLUTION DES GLOBULES BLANCS APRES LA REACTION AVEC LE STROMATOLYSER 4DL ET 4DX (SYSMEX CORPORATION SINGAPOUR 2014)	15
FIGURE 4 : SCHEMA DU DISPOSITIF OPTIQUE DE FLUOROCYTOMETRIE DE FLUX (SYSMEX CORPORATION SINGAPOUR 2014)	16
FIGURE 5 : DIAGRAMME DE DISPERSION DU CANAL WBC- DIFF DE L'ANALYSEUR SYSMEX XT ..	16
FIGURE 6 : DIAGRAMME DE DISPERSION DU CANAL DIFF DU PATIENT HUMAIN.....	33
FIGURE 7 : ANOMALIE DU DIAGRAMME DE DISPERSION DIFF DU CHAT PRESENT DANS L'ETUDE AVEC LE SYSMEX XT-2000iV	34
FIGURE 8 : DIAGRAMME DE DISPERSION DES DIFFERENTES POPULATIONS DE CELLULES POUVANT ETRE PRESENTES SUR LE CANAL DIFF. (SYSMEX CORPORATION S. D.).....	35

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : RECAPITULATIF DES RESULTATS OBTENUS.....	26
--	----

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : CAS CLINIQUE N°1 DADOU	42
ANNEXE 2 : CAS CLINIQUE N°2 CHINA	60
ANNEXE 3 : CAS CLINIQUE N°3 FLIPPER	65
ANNEXE 4 : CAS CLINIQUE N°4 JELSY	69
ANNEXE 5 : CAS CLINIQUE N°5 MAYA.....	73
ANNEXE 6 : CAS CLINIQUE N°6 GUESS.....	77
ANNEXE 7 : CAS CLINIQUE N°7 LEWIS.....	87
ANNEXE 8 : CAS CLINIQUE N°8 IRON.....	92
ANNEXE 9 : CAS CLINIQUE N°9 BOY.....	95
ANNEXE 10 : CODE DU PROGRAMME PERMETTANT D'EXTRAIRE LES DONNEES UTILES A L'ETUDE .	99

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'hémogramme est essentiel en médecine vétérinaire. Il apporte des informations quantitatives sur les différentes lignées cellulaires présentes dans le sang : hématies, leucocytes et plaquettes.

Aujourd'hui, la plupart des cabinets vétérinaires sont équipés d'automates d'hématologie. L'analyse de sang et des différentes cellules sanguines, se fait à partir d'un spécimen de sang prélevé sur un animal vigile à la veine jugulaire, saphène ou céphalique. Le sang est recueilli sur un tube contenant un anticoagulant l'EDTA (Éthylènediaminetétraacétique).

Le Sysmex-2000iV est un automate utilisant une nouvelle technologie pour l'étude des leucocytes la fluoro-cytométrie en flux, permet de distinguer les différents types de leucocytes, en plus de réaliser un comptage global de la population leucocytaire par une méthode plus traditionnelle de cytométrie simple.

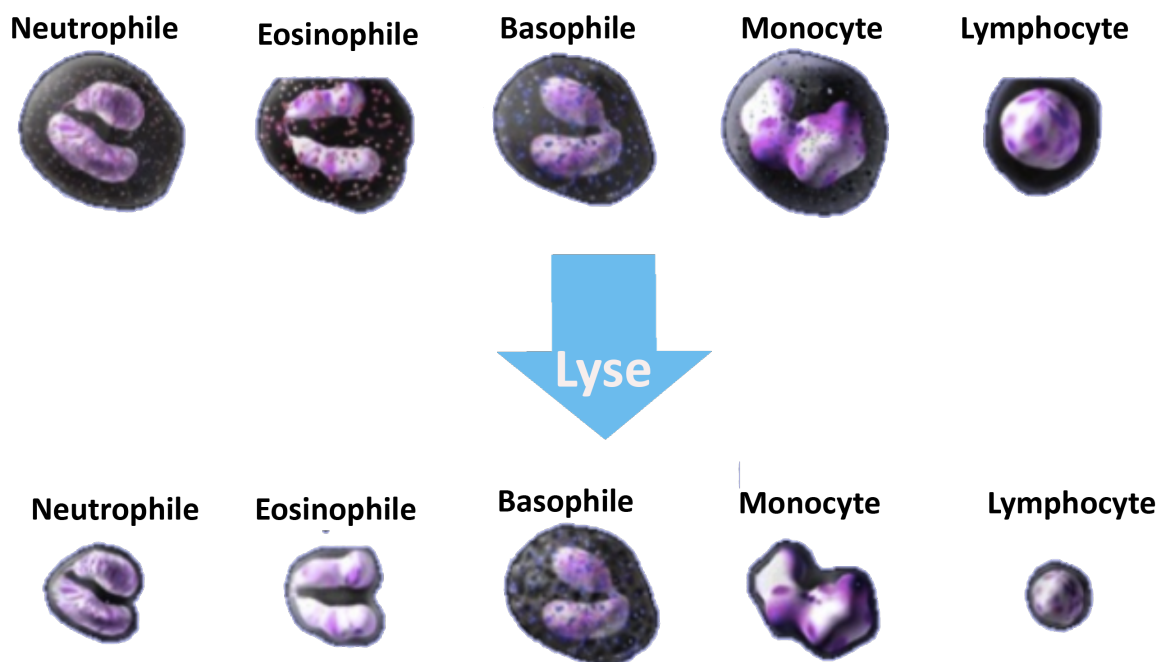
Cette étude a pour but de comparer les méthodes de cytométrie avec et sans fluorescence présentes sur le Sysmex XT-2000iV, et d'essayer de comprendre les causes des différences obtenues entre les deux valeurs données.

PARTIE I : Les méthodes de mesure des leucocytes avec le Sysmex XT-2000iV

A. Le Sysmex XT-2000iV

Le Sysmex XT-2000iV est un automate fondé sur la cytométrie de flux et l'impédance, pour un comptage précis des hématies, des réticulocytes, des leucocytes et des plaquettes. Plusieurs études prouvent sa fiabilité pour une utilisation vétérinaire en le comparant avec d'autres systèmes déjà validés ou avec le frottis sanguin (Lilliehöök et Tvedten 2009). Cet analyseur utilise deux méthodes pour le comptage des leucocytes.

La numération des leucocytes appelée BASO – WBC, se fait par cytométrie de flux simple : après la lyse des hématies grâce à un réactif acide (stromatolyser FB), une rétractation des leucocytes se produit, à l'exception des basophiles (Figure 1).



**Figure 1 : évolution des globules blancs après la réaction avec le stromatolyser FB
(Sysmex corporation Singapour 2014)**

Les cellules passent ensuite au devant d'un faisceau laser et deux types de signaux sont enregistrés :

- la lumière à diffusion frontale ou FSC qui donne des informations sur la taille des cellules ;
- la lumière à diffusion latérale ou SSC qui décrit la structure interne de la cellule.

Les résultats obtenus sont la concentration leucocytaire et un graphique de dispersion des leucocytes suivant la réfraction des ondes lumineuses (Figure 2). Le canal BASO est la méthode utilisée par défaut pour la numération des leucocytes.

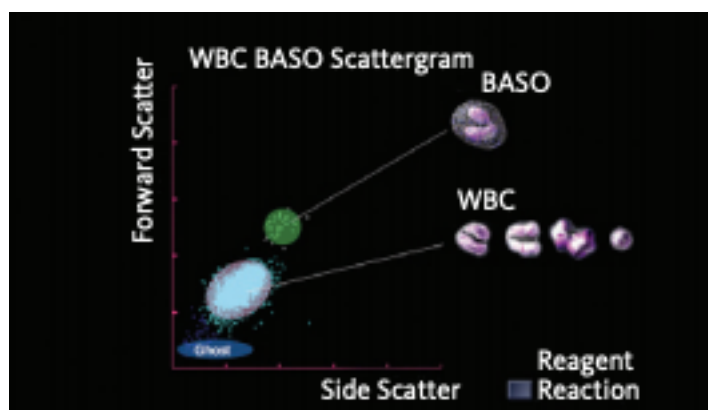


Figure 2 : Diagramme de dispersion du canal WBC- BASO de l'analyseur Sysmex XT

Le Sysmex Xt-2000iV est également doté de la technologie de fluoro-cytométrie en flux, qui consiste à marquer, après destruction des hématies, les leucocytes avec un fluorochrome qui se lie aux acides nucléiques. Les réactifs utilisés sont le stromatolyser-4DL et le stromatolyser-4DS. Le stromatolyser-4DL provoque la lyse des hématies et des plaquettes, et permet la perméabilisation des membranes des leucocytes. Le fluorochrome (la polyméthine), présent dans le Stromatolyser-4DS (Sysmex corporation Singapour 2014), entre via les pores formés dans les globules blancs et se lie aux acides nucléiques. Ce colorant devient fluorescent lorsqu'il est exposé à une lumière laser à 633 nm. L'intensité de la fluorescence est proportionnelle à la teneur en acide nucléique des cellules. Un autre acide présent dans le stromatolyser-4DL se lie spécifiquement aux granules des éosinophiles, ce qui permet leur reconnaissance (Figure 3).

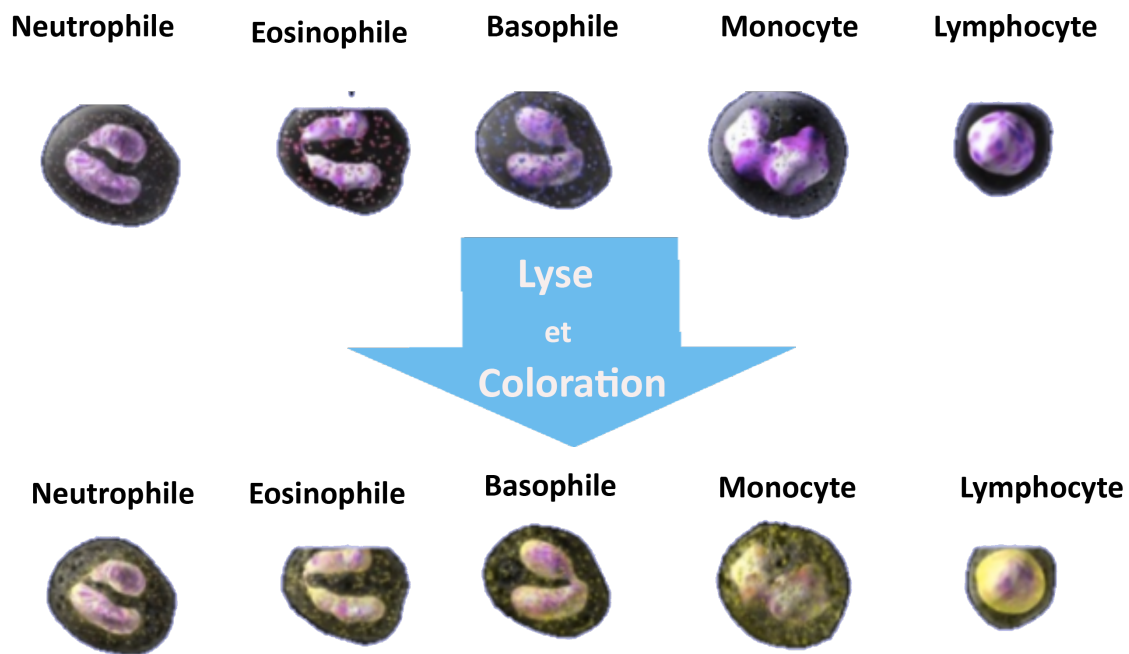


Figure 3 : évolution des globules blancs après la réaction avec le stromatolyser 4DL et 4DX (Sysmex corporation Singapour 2014)

Les leucocytes sont ensuite analysés par un laser (Figure 4) qui sépare les différents types de cellules grâce à trois signaux différents (deux identiques au canal BASO et un supplémentaire) :

- la diffusion frontale de la lumière (FSC : « forward scatter ») qui renseigne sur le volume de la cellule ;
- la diffusion latérale de la lumière (SSC : « side scatter ») qui renseigne sur le contenu de la cellule (granulations, noyaux) ;
- la fluorescence latérale de la lumière (SFL : « side fluorescence light ») qui renseigne la quantité d'ADN et d'ARN présente dans la cellule.

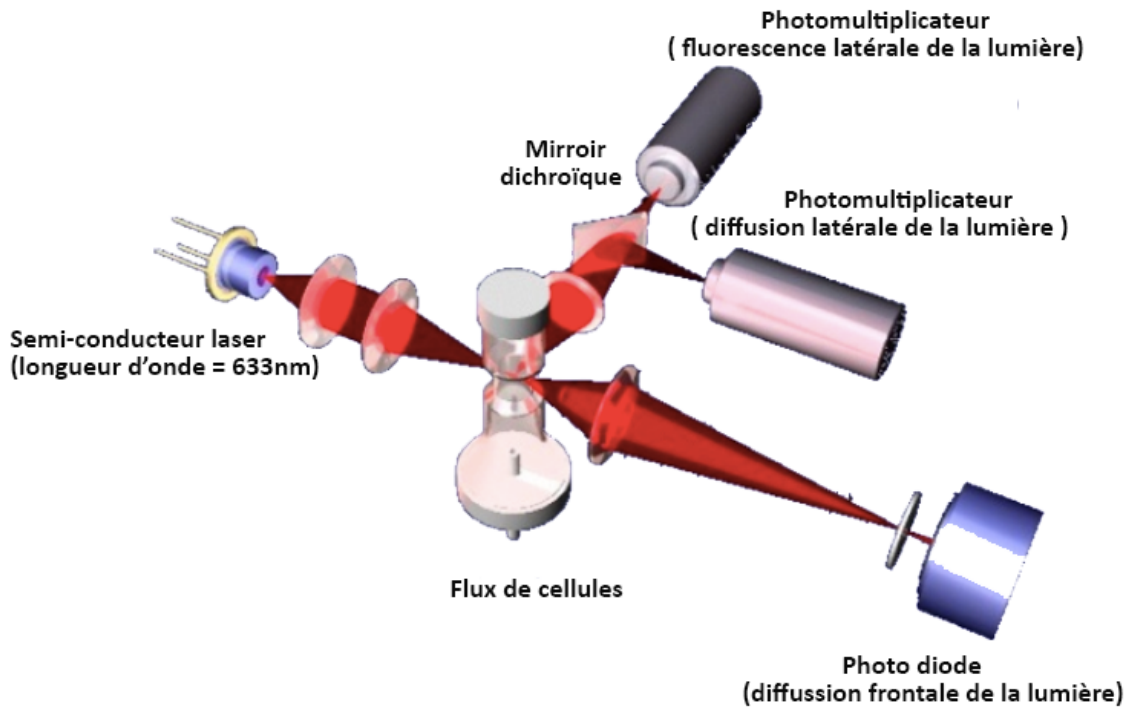


Figure 4 : schéma du dispositif optique de fluorocytométrie de flux (Sysmex corporation Singapour 2014)

Une fois la séparation cellulaire effectuée, l'analyseur regroupe ces données sous forme d'un diagramme de dispersion (Figure 5). Cette méthode permet de distinguer les différents leucocytes.

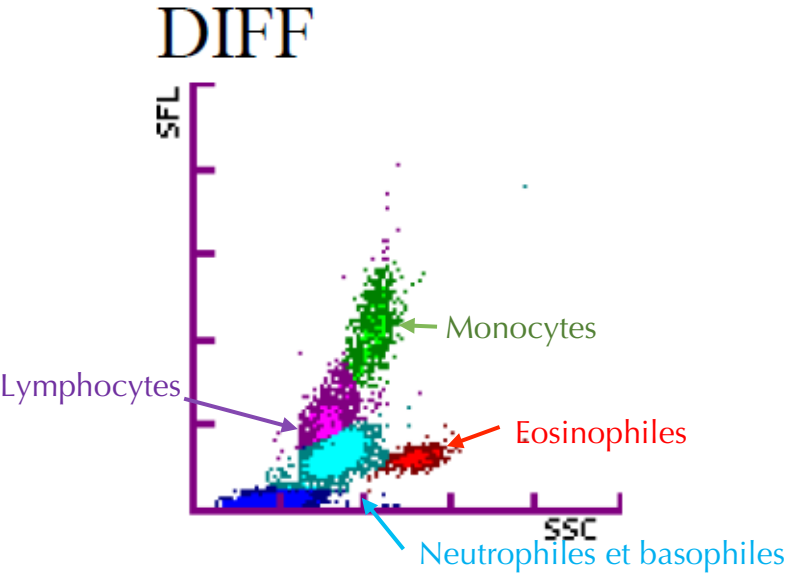


Figure 5 : Diagramme de dispersion du canal WBC- DIFF de l'analyseur Sysmex XT

B. Delta WBC

Une différence entre la numération des leucocytes obtenue par cytométrie de flux simple ou par fluoro-cytométrie, peut être observée chez certains patients, que ce soit sur le sang ou sur divers fluides biologiques. Cette différence est étudiée via le ratio DIFF-WBC/ BASO – WBC appelé Δ WBC sur sang ou Δ TNC sur les autres fluides. Ce ratio devrait, en toute rigueur, être proche de 1. Deux études, une vétérinaire et une en médecine humaine, se sont intéressées à cette variable.

Une étude publiée en 2015 (Giordano et al. 2015) montre que ce rapport D-WBC/ WBC réalisé sur les épanchements cavitaires peut permettre le diagnostic de la péritonite infectieuse féline (PIF). Le rapport D-WBC/ B-WBC est appelé Δ TNC, en effet le terme « cellules nucléées » est préféré quand il s'agit d'un liquide biologique autre que le sang. Le diagnostic ante-mortem de la PIF est toujours difficile, surtout dans sa forme sèche, en raison des signes cliniques variables et de la mauvaise spécificité des nombreux tests laboratoires. En revanche, la forme humide est plus facile à diagnostiquer grâce à l'analyse des épanchements.

Dans cette publication, deux groupes de chats ont été étudiés :

- le groupe A, avec 20 chats atteints de PIF. 18 chats avaient des caractéristiques physico-chimiques et cytologiques des épanchements compatibles avec un diagnostic de PIF. Les examens cytologiques montraient des neutrophiles généralement non dégénérés, des macrophages, des lymphocytes, de rares plasmocytes et des cellules mésothéliales sur une trame protéique. Deux cas étaient, toutefois, atypiques : l'épanchement du chat n°5 présentait une hypergammaglobulinémie polyclonale, une concentration sérique très élevée d'alpha-1-glycoprotéine acide (AGP), une concentration faible en protéines (17 g/L) associée à une faible densité (1.010) et une faible cellularité ($0,13 \times 10^9/l$), avec de rares polynucléaires neutrophiles et des cellules mésothéliales sans arrière-plan protéique. L'épanchement du chat n°25 révélait un nombre élevé de cellules mésothéliales réactionnelles, un fond avec peu de protéines. Cependant dans les deux cas, l'autopsie a révélé des lésions fibrineuses sous-séreuses typiques, et le diagnostic de la PIF a été confirmé par l'histologie avec la détection en immunohistochimie de lésions dues au FCoV. Les autopsies et l'immunohistochimie ont confirmé le diagnostic pour les 18 autres chats.

- le groupe B, avec 31 chats non atteints de PIF. Ce groupe comprenait des épanchements néoplasiques (n = 20) dus à des lymphomes (n = 10), des tumeurs épithéliales (n = 8), un thymome (n = 1) et un hémangiosarcome (n = 1) diagnostiqués par la cytologie des épanchements et des exsudats associés à des affections inflammatoires (n = 5). Trois cas étaient associés à une bactériologie positive de l'épanchement et deux cas étaient compatibles avec une cholangiohépatite féline. Il y avait, enfin, des épanchements chyleux (n = 3) et des transsudats modifiés (n = 3) associés à des tumeurs intra-abdominales.

Le Δ WBC était significativement plus élevé ($P < 0.001$) chez les chats atteints de PIF (médiane : 9.3 ; min-max : 0,5–36,4) que chez les chats non atteints (1.0 ; 0,5–2.5). Tous les chats atteints de PIF avaient un Δ TNC > 3.0 sauf les 2 chats « atypiques » (chat n°5 : Δ TNC = 0,538, chat n°25 : Δ TNC = 1,165). Tous les chats non-PIF avaient un Δ TNC < 3.0 . Plus précisément, seulement deux individus provenant des 31 chats non-PIF avaient un Δ TNC compris entre 1.7 et 3. Ces deux derniers cas correspondaient l'un, à un chat atteint d'un lymphome avec un épanchement très cellulaire (TNC-DIFF = $25.45 \cdot 10^9/l$ cellules), et le second, à un chat atteint d'une cardiopathie avec un épanchement presque acellulaire (TNCC-DIFF = $0,05 \cdot 10^9/l$, TNCC-BASO = $0,02 \cdot 10^9/l$ cellules).

D'après les résultats, la spécificité est de 100 % quand le Δ TNC est supérieur à 2.5, ce qui correspond bien à tous les épanchements de chats PIF sauf pour les deux cas atypiques.

En conclusion, un Δ TNC > 1.7 est très évocateur de la PIF, et un Δ TNC > 3.4 peut être considéré comme diagnostique.

Les résultats de l'étude actuelle confirment que l'analyse instrumentale avec le Sysmex XT-2000iV peut représenter une méthode fiable supplémentaire pour confirmer la PIF dans l'analyse des épanchements. L'élévation du Δ TNC peut être due au piégeage des leucocytes dans des caillots formés par la précipitation de fibrinogène sous l'effet des réactifs utilisés par le canal BASO. En effet, le nombre de cellules dans le canal BASO est généralement inférieur à celui du canal DIFF (Δ WBC > 1). Cette étude propose donc comme hypothèse que la concentration élevée en fibrinogène dans les épanchements de PIF serait à l'origine de l'élévation du Δ TNC. Concernant les deux

cas atypiques, d'après les auteurs, la faible différence de TNC pourrait être expliquée par une insuffisance hépatique à l'origine d'une hypofibrinogénémie.

Une autre étude publiée en 2003 (de Jonge et al. 2003) a évalué les différences de comptage de leucocytes entre les deux canaux dans le liquide synovial de patients humains avec pour objectif de différencier les affections inflammatoires, des non-inflammatoires.

Les spécimens de liquides synoviaux provenaient de patients ayant une articulation du genou gonflée. Le liquide a été récolté sur tube hépariné. Tous les tubes récoltés sur un même patient ont été mélangés au laboratoire, et ont été dilués 10 fois dans un tampon phosphate (pH = 7,4). Le fluide était alors, analysé dans l'heure à l'aide d'un microscope (à l'objectif x 400) et de l'analyseur Sysmex XE-2100.

Pour le comptage manuel des leucocytes, une cellule de numération de Kova a été utilisée. Cette évaluation microscopique est considérée comme la méthode de référence. Le second comptage a été réalisé par l'automate avec le canal WBC/BASO et le canal DIFF.

Les résultats ont montré une faible corrélation entre le comptage manuel et la numération des leucocytes obtenue par le canal BASO-WBC de l'analyseur d'hématologie. En revanche, la corrélation était forte avec la numération leucocytaire obtenue à partir du canal DIFF.

Il a été observé que le faible pH du réactif (stromatolyser-FB) utilisé dans le canal BASO-WBC (pH 3,4) provoque une coagulation de la mucine (polymérisation de l'hyaluronate) empêchant la bonne évaluation de la numération des leucocytes par l'automate. En effet, après un traitement avec des hyaluronidases, la numération leucocytaire par le canal BASO-WBC était similaire à celle obtenue par le canal DIFF.

Ces deux études ont montré que certaines substances pouvaient entraîner des erreurs de numération par le canal BASO et être à l'origine d'un rapport Δ WBC anormal (différent de 1).

Le but de notre étude est de déterminer les éléments analytiques, pré-analytiques pouvant faire varier le Δ WBC sur le sang de chien et d'essayer d'en déterminer les causes.

PARTIE 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 et L. Reberol. C. Trumel s'est occupée de la préparation du protocole, du traitement des données et de l'interprétation des résultats. L. Reberol a participé à la préparation du protocole, au traitement des données, à l'interprétation des résultats, et a pris en charge la recherche des comptes rendus cliniques, hématologiques et des frottis sanguins.

Le laboratoire de Biologie Médicale de l'ENVT a conservé les données (hémogrammes, frottis, comptes rendus laboratoires).

Pour réduire au maximum le côté subjectif de la sélection des hémogrammes, C. Trumel est intervenue en tant que personne expérimentée et L. Reberol en tant que personne « candide ».

2) Période et durée de l'étude rétrospective

L'étude s'est déroulée du 23/10/2014 au 16/12/2016, soit sur une période d'environ 2 ans.

3) Protocole de sélection des hémogrammes

a- Critères d'inclusion

Les hémogrammes évalués dans cette étude rétrospective ont été réalisés sur des chiens entre le 23 octobre 2014 et le 12 décembre 2016. Tous les hémogrammes obtenus selon les deux méthodes de comptage des leucocytes ont été pris en compte, y compris ceux où la mention « error » apparaît.

b- Critères d'exclusion

Parmi les hémogrammes de l'étude, sont exclus :

- Ceux réalisés pour un contrôle de qualité ;

- Ceux réalisés à partir d'un autre liquide que le sang (par exemple un épanchement ou du liquide synovial).

c- Extraction des données PDF

Le fichier PDF obtenu par le Sysmex, ne permet pas d'extraire facilement les données pour pouvoir les analyser dans un tableur Excel. Un programme informatique en langage Python a donc été créé pour récupérer ces données.

L'ensemble du code avec son explication est visible dans l'annexe 10.

d- Vérification des données

Une personne externe à l'étude (R. Michel) a lu 10% des valeurs écrites dans les dossiers et L. Reberol a vérifié le report sur le document Excel et inversement.

e- Analyses des données

2248 hémogrammes ont été retenus pour l'étude.

Pour chaque hémogramme, le rapport Δ WBC (= WBC DIFF / WBC BASO) a été calculé, les hémogrammes ont alors été classés par ordre croissant de valeur pour le Δ WBC.

Une analyse du dossier de l'animal a été réalisée pour tous les animaux présentant un Δ WBC supérieur à 1,2 ou inférieur à 0,8 soit 15 dossiers : Cela représentait 0.6 % des échantillons.

B. Résultats

1) Etude analytique

Sur les 2248 hémogrammes retenus, seuls 9 hémogrammes réalisés sur 5 chiens ont présenté un rapport supérieur ou égal à 1,2 et 4 hémogrammes ont présenté un rapport inférieur à 0,8.

	Δ WBC	Animal	Anomalies observées	Diagnostic
Δ WBC > 1,2	1,41 / 1,56 / 2,07 / 1,97 / 1,22	DADOU, CN labrador mâle de 7 ans Annexe 1	<ul style="list-style-type: none"> - Alarme sur le canal BASO (*) - Absence de formule leucocytaire - diagramme DIFF : présence de cellules de fluorescence anormalement élevée situées au-dessus des monocytes et absence d'une nette délimitation des nuages de points des neutrophiles, lymphocytes et monocytes (1hémogramme) / absence d'une nette délimitation des nuages de points des neutrophiles, lymphocytes et monocytes (zone grise) (3 hémogrammes) - Présence de cryoglobulines et de band cells sur le frottis 	Péricardite septique
	2,04	CHINA, CN Bouledogue Français femelle de 11 ans Annexe 2	<ul style="list-style-type: none"> - Alarme sur la canal BASO (*) - Absence de formule leucocytaire sans alarme - Diagramme BASO : trainée de points sigmoïdes en arrière des points correspondant aux leucocytes 	Masse de la selle turcique compatible avec un macroadénome ou un macroadénocarcinome

	1,23	MAYA, CN croisée Beauceron femelle de 11 ans Annexe 5	<ul style="list-style-type: none"> - Diagramme DIFF : absence de séparation nette entre les lymphocytes et les monocytes - Présence d'amas leucocytaires en quantité importante sur le frottis 	sarcome splénique à cellules fusiformes avec bilan d'extension positif
	1,2	JELSY, CN croisé Labrador femelles de 8 mois Annexe 4	<ul style="list-style-type: none"> - Alarme sur le canal DIFF - Absence de formule leucocytaire - Alarme concernant l'hématocrite - Diagramme BASO : Absence de séparation nette entre la zone de débris cellulaires et la zone des leucocytes - Diagramme DIFF : Absence de séparation nette entre les neutrophiles, lymphocytes et monocytes (zone grise) - Présence de beaucoup de Band cells, de lymphocytes et de quelques mastocytes circulants, présence d'hématies en rouleaux, présence d'amas plaquettares sur le frottis 	Parvovirose compliquée en intussusception

	1,2	FLIPPER, CN Golden Retriever mâle de 12 ans Annexe 3	- Présence de quelques amas plaquettaires et macroplaquettes	ITU
Δ WBC < 0,8	0,12	LEWIS, CN croisé Jack Russel Terrier mâle de 2 ans Annexe 7	- Alarme sur la canal BASO (*) - Alarme sur le canal DIFF - Absence de formule leucocytaire - Diagramme DIFF : mauvaise séparation des nuages de points (zone grise) et positionnement anormalement bas d'un seul nuage de points à l'emplacement des neutrophiles - Aspect macroscopique du sang : Sang très foncé presque noir - Présence de quelques érythroblastes (1/100GB), de rouleaux d'hématies sur le frottis	Intoxication au paracétamol
	0,19	IRON, CN Bouledogue français mâle de 1 an Annexe 8	- Alarme sur la canal BASO (*) - Alarme sur la canal DIFF (---) - Absence de formule leucocytaire	Syndrome brachycéphale

	0,58	BOY, CN Epagneul breton mâle de 8,5 ans Annexe 9	<ul style="list-style-type: none"> - Alarme sur la canal BASO (*) - Absence de formule leucocytaire - Diagramme DIFF : continuité visible entre tous les groupes de leucocytes et démarcation arbitraire entre les neutrophiles et les lymphocytes (ligne droite), présence de points violets au-dessus de la plage des monocytes - Présence de cristaux d'hémoglobine en quantité modérée, d'une anisocytose, de quelques échinoacanthocytes et érythroblastes (6/100 GB), présence d'agrégats plaquettaires en quantité modérée et de macroplaquettes sur le frottis 	Sepsis sur chirurgie osseuse
--	------	---	--	------------------------------

	0,77	<p>GUESS, CN Boxer femelle de 4 ans Annexe 6</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Alarmes concernant les lignées érythroïdes et plaquettaires liées à des courbes en impédance (RPC, PLT) très anormales ne permettant pas de valider les résultats - Absence de formule leucocytaire - Diagramme DIFF : mauvaise séparation des nuages de points - Présence d'agglutinats d'hématies, présence d'érythroblastes (7 et 12/100GB), d'une polychromatophilie importante sur le frottis 	<p>Réaction à l'imidocarbe : AMHI</p>
--	------	--	---	---------------------------------------

Tableau 1 : Récapitulatif des résultats obtenus

2) Etude synthétique (Tableau 1)

D'après le tableau réalisé dans l'étude analytique décrivant l'ensemble des anomalies observées lors de Δ WBC <0.8 ou >1.2 , il ressort que certaines anomalies sont observées fréquemment.

Si l'on prend en considération les anomalies des graphiques, il ressort que :

5 hémogrammes sont associés à la présence **d'une zone grise** sur le diagramme DIFF (Annexe 1, 4, 7) ; 3 du même animal sont associés à la présence de cryoglobulines (Annexe 1), un autre à la présence de méthémoglobine (Annexe 7) et le dernier à la présence d'une polyglobulie, de rouleaux et de nombreux band cells (Annexe 4).

3 hémogrammes sont associés à la **présence d'une continuité visible entre tous les groupes de leucocytes sur le diagramme DIFF** ; 1 est associé à la présence de cryoglobulines (Annexe 1). 1 est associé à la présence d'érythroblastes, de nombreux agglutinats de globules rouges avec un test d'agglutination sur lame positif, d'une réaction leucémoïde dans le cadre d'une anémie hémolytique à médiation immune (Annexe 6 et 9), et le dernier présente également des érythroblastes avec quelques cristaux d'hémoglobine, de nombreux band cells et des neutrophiles toxiques, des lymphocytes, des monocytes réactionnels et quelques mastocytes ainsi que des agrégats plaquettaires en quantité modérée (Annexe 9).

2 hémogrammes sont associés à la **présence de cellules de fluorescence anormalement élevée (Annexe 1 et 9) situées au-dessus des monocytes** ; 1 est corrélé à la présence de cryoglobulines (Annexe 1) et l'autre à la présence d'érythroblastes avec quelques cristaux d'hémoglobine, de nombreux band cells et neutrophiles toxiques, des lymphocytes et monocytes réactionnels, quelques mastocytes et des agrégats plaquettaires en quantité modérée (Annexe 9).

1 hémogramme (Annexe 2) est associé une **trainée de points d'aspect sigmoïde** en arrière des points correspondant aux leucocytes sur le diagramme BASO. Aucune anomalie sur le frottis ou la biochimie n'a été détectée.

1 hémogramme (Annexe 4) est associé à une **absence de séparation nette entre la zone de débris cellulaires et la zone des leucocytes** sur le diagramme BASO. Ces modifications sont reliées à d'autres anomalies : sur le diagramme DIFF, les nuages de points sont grisés et nous observons des band cells, de lymphocytes réactionnels, de quelques mastocytes, des hématies en rouleaux et quelques amas plaquettaires sur le frottis.

Si l'on prend en considération les anomalies du frottis sanguin, il ressort que :

5 hémogrammes provenant du même animal sont associés à des cryoglobulines (Annexes 1) avec des anomalies sur le diagramme DIFF telles que la présence de cellules de fluorescence anormalement élevée situées au-dessus des monocytes, la présence d'une continuité visible entre tous les groupes de leucocytes sur le diagramme DIFF, la présence d'une zone grisée sur les nuages de points. Pour la suite, on parlera d'un hémogramme en référence au cas n°1 sans prendre en compte le nombre d'hémogrammes fait sur cet animal.

2 hémogrammes sont associés à la présence de nombreux bands cells (Annexes 4 et 9) dans le cadre respectivement, d'une leucopénie et d'une leucocytose avec des anomalies sur le diagramme BASO comme une absence de séparation nette entre la zone de débris cellulaires et la zone des leucocytes (Annexe 4), ainsi que des anomalies sur le diagramme DIFF avec une absence de séparation nette entre les neutrophiles, lymphocytes et monocytes (nuage de points grisés) (Annexe 4) ou une continuité entre les nuages des neutrophiles, lymphocytes et monocytes mais maintien des nuages colorés (Annexe 9).

1 hémogramme est associé à la présence d'agrégats leucocytaires (Annexe 5) et ne présente pas d'anomalie des nuages de points.

5 hémogrammes sont caractérisés par des lymphocytes et ou monocytes réactionnels (Annexes 1, 2, 3, 4 et 9) et trois sont caractérisés par une fusion des nuages des leucocytes sur le diagramme DIFF (Annexes 1, 4 et 9), une extension du nuage des monocytes vers le haut (Annexes 1, 4 et 9), une jonction entre les débris et le nuage des

leucocytes sur le diagramme BASO (Annexes 1, 2 et 4) et la formation d'un S (Annexes 1 et 2).

2 hémogrammes sont associés à la présence de mastocytes circulants (Annexes 1 et 4) avec respectivement des anomalies sur le diagramme DIFF telles que la présence de cellules de fluorescence anormalement élevée situées au-dessus des monocytes et la présence d'une continuité visible entre tous les groupes de leucocytes sur le diagramme DIFF pour les deux cas et possible zone grisée.

2 hémogrammes sont associés à des érythroblastes (Annexes 6 et 9) avec des anomalies sur le diagramme DIFF : présence d'une continuité visible entre tous les groupes de leucocytes.

2 hémogrammes sont associés à la présence de rouleaux (Annexes 4 et 7) avec pour les deux des anomalies sur le diagramme DIFF (zone grisée et aspect fusionné des nuages) et pour le cas n° 4, une anomalie sur le diagramme BASO (fusion entre le nuage des leucocytes et celui des débris).

1 hémogramme est associé à la présence d'agglutinats et est caractérisé par un diagramme DIFF sur lequel est visible une fusion de l'ensemble des nuages des leucocytes avec une persistance des couleurs (Annexe 6).

2 cas sont associés à la présence d'agrégats plaquettaires en plus ou moins grands nombres (Annexes 1 et 9) avec pour les deux, des anomalies sur le diagramme DIFF : présence d'une continuité visible entre tous les groupes de leucocytes et la présence de cellules de fluorescence anormalement élevée situées au-dessus des monocytes.

Si l'on prend en considération le Δ WBC >1.2, il en ressort une absence d'anomalie dans un cas (Annexe 3).

Si l'on prend en considération les anomalies du D WBC <0.8, tous les hémogrammes sont associées à des anomalies diverses.

DISCUSSION

L'objectif de notre étude était déterminer la fréquence d'un Δ TNC élevé ou diminué chez le chien et d'en déterminer les causes. Ce dernier peut être dû, à un problème soit pré-analytique (maladie, difficulté de prélèvement), soit analytique (réactif, pipetage) soit post-analytique (traitement des données). La difficulté majeure dans notre interprétation a été de savoir si un Δ TNC élevé ou diminué était bien la conséquence des anomalies visibles sur le frottis (agrégats de leucocytes, de plaquettes). D'autre part, dans notre étude, lors d'incidents techniques, il n'a pas été possible de distinguer l'origine du dysfonctionnement comme un mauvais pipetage, un problème au niveau des réactifs ou un problème informatique.

En médecine humaine, une concentration faussement élevée de leucocytes et un Δ WBC anormal peuvent être dus à des causes multiples (Zandecki et al. 2007) : des agrégats plaquettaires, des macroplaquettes, des globules rouges nucléés, des globules rouges résistants à la lyse, des cryoglobulines, du cryofibrinogène, des lipides, des micro-organismes, du tissu adipeux ou un remplissage excessif des tubes de collecte de sang.

Une des anomalies retrouvées le plus fréquemment, est la présence d'agrégats plaquettaires. Cela peut être un réel problème pour comptabiliser correctement le nombre de leucocytes. En effet, ces amas peuvent être comptabilisés comme de petits lymphocytes et induire une fausse leucocytose. Dans le canal BASO, le réactif permet la lyse des agrégats plaquettaires, contrairement au réactif du canal DIFF, où se produit une lyse ménagée sans destruction des leucocytes. Ceux-ci sont alors comptés comme des leucocytes via le canal DIFF et induisent une fausse leucocytose avec un Δ WBC augmenté. Dans notre étude, deux hémogrammes avec des Δ WBC de 1,2 présentaient cette anomalie ; cependant, ils présentaient également d'autres anomalies plus importantes sur le frottis (band cells, érythroblastes). Parallèlement, nous constatons que sur tous les hémogrammes étudiés, de nombreux chiens présentaient des agrégats plaquettaires sans avoir de répercussion sur la numération leucocytaire. Nous pouvons donc proposer deux hypothèses : la première est que les agrégats ont peu d'effet mais cela serait contraire à ce qui est dit en médecine humaine ; la deuxième est que la taille

des agrégats, leur nombre où la possibilité qu'ils aient emprisonnés des leucocytes ou des hématies peut être à l'origine ou non d'anomalies sur le canal DIFF.

Cinq hémogrammes provenant du même chien sont associés à la présence de cryoglobulines (Annexe 1), trois d'entre eux ont un nuage de points grisés et une mauvaise séparation des groupes de leucocytes. Un autre hémogramme présente des cellules à haute fluorescence au-dessus du nuage de points des monocytes. La modification du delta (supérieur à 1,2) est dans ce cas due à la présence de cryoglobulines. Ce sont des immunoglobulines ou des complexes immuns qui précipitent à une température inférieure à 37 °C et se dissolvent à 37 °C (Takada 2012). Elles présentent des anomalies de structures comme la perte de groupements thiols, la modification de certains acides aminés ou des modifications sur les groupements glucidiques.

Une des hypothèses retenues dans l'apparition de ces anomalies serait l'activation des lymphocytes B lors de stimulations antigéniques répétées ou lors d'un problème hépatique.

La cryoprécipitation est influencée par différentes variables comme la température, le pH, les forces ioniques ou encore la présence d'autres protéines sériques.

La présence de ces cryoglobulines semble perturber certaines analyses biochimiques et ou hématologiques comme :

- la vitesse de sédimentation ;
- l'apparition de perturbations de l'électrophorèse des protéines : fausse hypogamma-globulinémie ;
- l'apparition de fausses leucocytoses, de fausses thrombocytoses, de fausses baisses de la numération des hématies, de fausses macrocytoses.

En médecine humaine, les analyseurs d'hématologie à impédance peuvent détecter les cryoglobulines sous forme de petites particules (<35 fL), conduisant à des numérations de leucocytes excessivement élevées (Banfi et Bonini 1988). Cependant, ces observations ne peuvent pas être comparées car dans cette étude, c'est un appareil à variation d'impédance qui a été utilisé. Dans notre cas, les cryoglobulines sont représentées par un nuage de points situé au-dessus des monocytes. Nous retrouvons également une continuité entre toutes les populations de leucocytes. Cette deuxième

caractéristique semble subsister encore après un chauffage à 37°C (Annexe 1) : cela peut donc être due à d'autres facteurs comme la présence de band cells.

La numération via le canal BASO ne semble pas être affectée par la présence de cette substance. En effet après chauffage, la numération via le canal DIFF devient identique à celle effectuée via le canal BASO.

Ces résultats sont comparables à une étude en médecine humaine (Fohlen-Walter et al. 2002) ayant montré que les appareils à variation d'impédance et les appareils utilisant la cytométrie de flux commettaient des erreurs similaires pour des raisons différentes avec également pour les dernière génération d'automates des fausses leucocytoses et thrombocytoses.

Cinq hémogrammes présentaient des zones grises, trois d'entre eux correspondaient à la présence de cryoglobulines (Annexe 1). Sur les deux autres hémogrammes, un chien (Annexe 4) présentait uniquement une quantité importante de band cells sur le frottis. La présence de ces cellules ou de neutrophiles toxiques peut entraîner une mauvaise séparation des leucocytes par le Sysmex XT-2000iV (Lilliehöök et Tvedten 2009). Il semble donc probable qu'une quantité très importante de band cells, puisse être à l'origine d'une zone grisée du fait de la difficulté du Sysmex à séparer les différentes populations leucocytaires et avec pour conséquence le déclenchement d'une alarme. Le dernier hémogramme de cette catégorie (Annexe 7), présentait un sang riche en méthémoglobine suite à une intoxication au paracétamol. L'implication de la présence de la méthémoglobine dans la numération leucocytaire n'a pas été documentée ; cependant, plusieurs études en médecine humaine et vétérinaire décrivent des interférences de numération de leucocytes avec la présence d'hémoglobines anormales dans les spécimens de patients. Les diagrammes de dispersion observés sur les différents cas des études, présentent tous des nuages de points grisés et une fluorescence anormalement basse identiques à notre cas (Annexe 7).

Une étude (Park et al. 2019) a mis en évidence des anomalies identiques sur les diagrammes de dispersion d'un patient humain présentant des variants anormaux d'hémoglobines. En effet, le patient ayant un nombre de leucocytes normal, présentait un diagramme de dispersion des leucocytes anormal dans le diagramme DIFF. Le Sysmex XN-9000 employé, utilise le même réactif que l'automate de notre étude, le

Sysmex XT-2000iV. Le diagramme DIFF-WBC du patient humain, a montré un signal fluorescent anormalement bas (Figure 6) identique au cas clinique de notre étude. De plus, le nombre de leucocytes, à l'examen microscopique, était totalement normal et ne présentait pas d'anomalie.

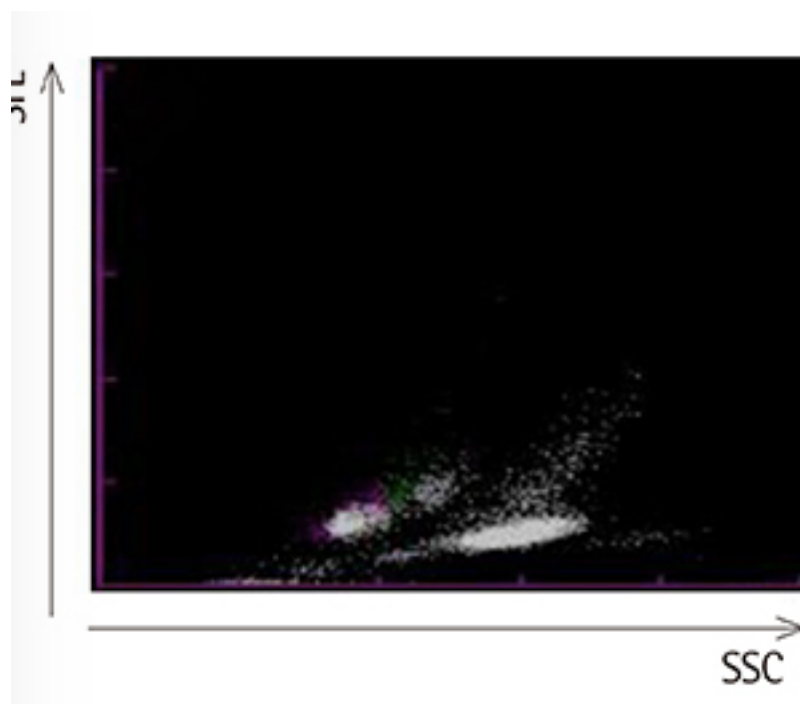


Figure 6 : Diagramme de dispersion du canal DIFF du patient humain

Après avoir ajouté une solution saline et éliminé les hématies dans le spécimen du patient, le diagramme de dispersion des leucocytes et le nombre de leucocytes compté via le canal DIFF sont revenus à la normale. Cette découverte suggère que la présence de globules rouges anormaux chez un patient peut affecter les diagrammes de dispersion des leucocytes et que les variantes d'Hb anormales retrouvées ici, peuvent interférer avec le colorant fluorescent utilisé lors de la numération différentielle des leucocytes. Par conséquent, lorsqu'un analyseur Sysmex XN-9000 présente un diagramme de dispersion WBC anormal avec un signal fluorescent anormalement bas, la présence d'une variante d'Hb peut être suspectée.

Selon d'autres études (Rosetti et al. 2015); (Teixeira, Pina, et Freitas 2017), un diagramme de dispersion anormal avec un signal fluorescent anormalement bas observé avec l'analyseur Sysmex, pourrait avoir été causé par une interférence d'hémoglobines instables libérées dans le canal WDF lors d'une lyse des globules rouges. Le colorant utilisé pour la numération différentielle des leucocytes

(polyméthine) se lie avec une plus grande affinité à certains variants d'Hb qu'aux acides nucléiques des leucocytes. Cela pourrait également réduire la perméabilité des leucocytes au colorant et, par conséquent, réduire la coloration des leucocytes, entraînant des signaux de fluorescence anormalement bas dans le canal DIFF. Cette hypothèse n'a jamais été vérifiée chez les animaux, cependant, il existe un cas dans la littérature, présentant une fluorescence similaire suite à une intoxication : l'étude (Granat et al., s. d.) s'est intéressée à un chat présentant une anémie hémolytique secondaire à un stress oxydatif associée à la présence de corps de Heinz et possiblement de méthémoglobine ou tout au moins de l'hémoglobine modifiée par oxydation des groupements cystéines présent sur les chaînes de globines suite à une intoxication aux poireaux. Ce chat présentait un diagramme de dispersion BASO-WBC sans anomalie. Sur le diagramme de dispersion DIFF (Figure 7), un décalage des nuages de points vers l'axe des abscisses était visible ; très peu de neutrophiles étaient présents (petit nuage de points turquoise) et quasiment aucun lymphocytes et monocytes (points roses et verts).

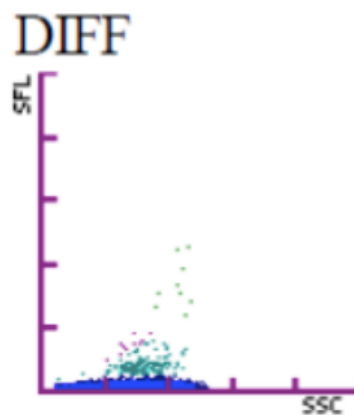
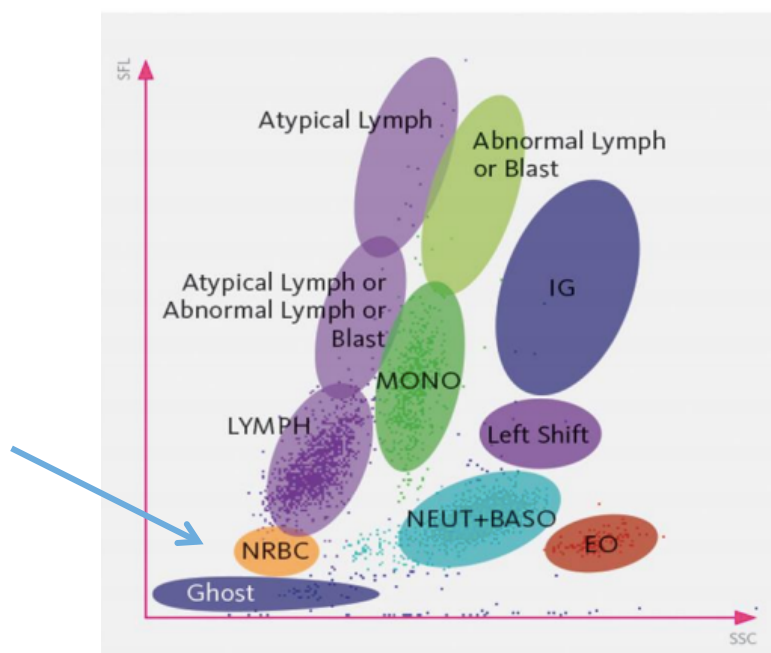


Figure 7 : Anomalie du diagramme de dispersion DIFF du chat présent dans l'étude avec le Sysmex XT-2000iV

Même si nous ne pouvons vérifier cette hypothèse, il se pourrait que la méthémoglobine interfère de la même manière que ces variants instables.

Certaines modifications des hématies et la présence d'érythroblastes pourraient expliquer des Δ WBC anormaux avec notamment, une surestimation de la numération des leucocytes par le canal DIFF du fait d'une mauvaise séparation entre le nuage de points des érythroblastes et des neutrophiles. Trois hémogrammes ont présenté des

valeurs d'érythroblastes (NRBC) de 6, 7 et 12 érythroblastes pour 100 GB (Annexes 6 et 9). Ces trois spécimens étaient associés à des anomalies au niveau du diagramme de dispersion DIFF avec une continuité visible entre tous les groupes de leucocytes. Selon la société Sysmex (Sysmex corporation s. d.), les NRBC ont une taille et un noyau semblables à ceux des lymphocytes, ce qui pourrait entraîner des erreurs de numération. Le Sysmex XT-2000iV ne possède pas de canal pouvant quantifier spécifiquement les NRBC. Les numérations effectuées par le canal DIFF sont associées à une destruction des membranes cellulaires des érythroblastes sans lyse totale. Ces derniers peuvent, alors, être comptabilisés, comme des leucocytes car ils possèdent encore du matériel nucléaire.



**Figure 8 : Diagramme de dispersion des différentes populations de cellules pouvant être présentes sur le canal DIFF. (Sysmex corporation s. d.)
Localisation des érythroblastes sur le diagramme, signalée par la flèche bleue**

Comme nous pouvons le voir sur la figure 8, les NRBC se situent, lorsqu'ils sont présents, entre les neutrophiles et les lymphocytes, comme sur les deux cas de notre étude (Annexe 6 et 9).

Les numérations effectuées par le canal BASO utilisent un réactif qui détruit les cytoplasmes des cellules tout en conservant les noyaux. Ils pourraient donc être comptés comme des leucocytes et également être à l'origine d'une surestimation de la numération des leucocytes. Les érythroblastes peuvent être visibles sur le diagramme BASO et être localisés à gauche du nuage de points des leucocytes ; cependant sur les

deux cas de l'étude, nous ne discernons pas d'anomalie sur ces diagrammes (Contassot, s. d.) ; (Rais 2018).

Un hémogramme présentait une absence de séparation nette entre les lymphocytes et les monocytes, avec la présence d'amas leucocytaires en quantité importante (Annexe 5). Concernant les amas leucocytaires (Zandecki et al. 2007) (Dubois-Galopin et al. 2010), ceux de grande taille sont généralement négligés par les automates et seuls les plus petits déclenchent des messages d'erreurs. Quand le nombre de leucocytes est déterminé via le canal BASO, les agrégats sont détruits par le réactif lysant les membranes cellulaires : le résultat est alors correct. En revanche, la lyse réalisée lors du comptage différentiel est beaucoup plus douce. Cela ne permettrait pas de détruire les amas. Le Δ WBC devrait être abaissé or l'hémogramme présentant cette anomalie était associé à un Δ WBC de 1,2, donc légèrement augmenté. Cette augmentation du Δ WBC ne semble pas pouvoir être expliquée par la présence d'amas leucocytaires.

Une absence de séparation nette entre les lymphocytes et les monocytes était également visible. Aucun cas n'a été évoqué dans la littérature scientifique concernant l'impact des amas leucocytaires sur les anomalies de diagramme différentiel. Cependant, on peut imaginer que dans le cadre de petits agrégats leucocytaires, la fluorescence de 2 ou 3 neutrophiles agrégés est équivalente à la fluorescence des lymphocytes ou des monocytes. Cela pourrait donc expliquer la présence d'un continuum de points suivant le nombre de neutrophiles agrégés, mélangés aux lymphocytes et monocytes du patient.

Un hémogramme avec une alarme sur le canal BASO et DIFF (Annexe 8), ne présentait aucune anomalie sur les diagrammes de dispersion ou encore sur le frottis sanguin. En revanche le Δ WBC était de 0,19, il y a donc une erreur importante de numération des leucocytes. Iron ne présentait aucune affection pouvant expliquer cette anomalie. Malheureusement, le spécimen aurait dû être repassé dans l'automate mais cela n'a pas été réalisé au moment de l'analyse. Il est donc impossible de savoir d'où provient cette erreur probablement purement analytique (défaut de pipetage par exemple).

CONCLUSION

Parmi les 2248 hémogrammes de chiens répertoriés entre le 23/10/2014 et le 16/12/2016 au laboratoire de Biologie Médicale de l'ENVT, 15 présentaient un Δ WBC anormal supérieur à 1,2 ou inférieur à 0,8. La présence d'agrégats plaquettaires, d'amas leucocytaires, d'érythroblastes, de cryoglobulines, de méthémoglobine, semblent être à l'origine des anomalies visibles sur les graphiques et peuvent expliquer les erreurs de comptage leucocytaire effectuées par le Sysmex XT-2000iV. Des alarmes sont parfois observées mais ne sont pas systématiques ; il est donc essentiel d'analyser les graphiques et l'ensemble des résultats chiffrés avant de valider un résultat donné par l'automate. Si la plupart des erreurs associées à un Δ WBC anormal sont explicables par l'observation attentive des graphiques et du frottis, certaines discordances n'ont pas pu être expliquées ni par le frottis ni par la maladie de l'animal, et semblent être d'ordre analytique sans cependant d'explications claires.

La présence de ces deux méthodes de comptage leucocytaire reste un atout important de l'automate permettant de s'assurer de la bonne qualité des résultats obtenus. En effet, la présence de résultats similaires permet de confirmer simplement le résultat obtenu. En cas de différence importante, l'analyse du graphique et du frottis permet de déterminer quelle est la numération exacte. De plus, la différence de technologie et de réactifs entre les deux comptages permet d'orienter et de comprendre dans un certain nombre de cas l'origine de l'erreur voire d'émettre un diagnostic.

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 Laurie REBEROL intitulée « Étude des facteurs influençant la différence de numération des leucocytes entre le canal baso-WBC et le canal diff-WBC du système XT-2000iV sur le sang chez le chien » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.



Fait à Toulouse, le 16/07/2019
Professeure Catherine TRUMEL
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Vu :
Le Directeur par intérim de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Frédéric BOUSQUET



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



Mme Laurie REBEROL
a été admis(e) sur concours en : 2014
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 18/07/2018
a validé son année d'approfondissement le : 16/07/2019
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

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

RÉFÉRENCES

Contassot, Ingrid. s. d. « HEMATOLOGIE - CYTOLOGIE », 67.

de Jonge, Brouwer, et Smit. 2003. « Automated Counting of White Blood Cells in Synovial Fluid ». *Rheumatology* 43 (2): 170-73.

<https://doi.org/10.1093/rheumatology/keh021>.

Dubois-Galopin, Frédérique, Florence Lamballais, Chantal Rapatel, et Marc Gabriel Berger. 2010. « XE-2100: amas de plaquettes ou de leucocytes, telle est la question... » *Annales de biologie clinique*, n° 4 (juillet): 480–484.

<https://doi.org/10.1684/abc.2010.0454>.

Fohlen-Walter, Anne, Christine Jacob, Thomas Lecompte, et Jean-François Lesesve. 2002. « Laboratory Identification of Cryoglobulinemia From Automated Blood Cell Counts, Fresh Blood Samples, and Blood Films ». *American Journal of Clinical Pathology* 117 (4): 606-14.

<https://doi.org/10.1309/QXPP-DC4X-N3Q8-KW62>.

Giordano, Alessia, Angelica Stranieri, Gabriele Rossi, et Saverio Paltrinieri. 2015. « High Diagnostic Accuracy of the Sysmex XT-2000iV Delta Total Nucleated Cells on Effusions for Feline Infectious Peritonitis ». *Veterinary Clinical Pathology* 44 (2): 295-302.

<https://doi.org/10.1111/vcp.12241>.

Granat, F, A Geffré, N Bourgès Abella, et C Trumel. s. d. « LEEK DIET MAY CAUSE HEMOLYTIC ANEMIA: A CASE REPORT IN A CAT. », 11.

Lilliehöök, Inger, et Harold Tvedten. 2009. « Validation of the Sysmex XT-2000iV Hematology System for Dogs, Cats, and Horses. II. Differential Leukocyte Counts ». *Veterinary Clinical Pathology* 38 (2): 175-82.

<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2009.00126.x>.

Park, Sholhui, Tae Dong Jeong, Ki-Sook Hong, et Jungwon Huh. 2019. « A Clue to Discovering Unstable Hemoglobin Variants via Abnormal WBC Differential Scattergrams Using the Sysmex Automated Hematology Analyzer ». *Laboratory Medicine Online* 9 (2): 84.

<https://doi.org/10.3343/lmo.2019.9.2.84>.

Rais, Mustapha. 2018. « Évaluation des performances du paramètre de recherche HFLC sur l'identification et la quantification des lymphocytes activés sur automate à numération Sysmex XN-10 à propos de 180 cas au CHU de Rouen », 83.

Rosetti, Marco, Giovanni Poletti, Alberto Sensi, Anna Ravani, Michela Rondoni, Luca Baldrati, et Romolo M. Dorizzi. 2015. « A Rare Case of Hemoglobin Leiden Interfering with the DIFF Channel of Sysmex XE-2100 ». *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 75 (5): 436-37.

<https://doi.org/10.3109/00365513.2015.1033743>.

Sysmex corporation. s. d. « Érythroblastes - NRBC - Sysmex France ». Sysmex. Consulté le 1 juillet 2019. <https://www.sysmex.fr/academie/centre-dexpertise/parametres-sysmex/erythroblastes-nrbc.html>.

Sysmex corporation Singapour. 2014. « Sysmex Xt-2000i cell counter Autoanalyser ». mai 1.

Takada, Shimon. 2012. « Cryoglobulinemia (Review) ». *Molecular Medicine Reports*, avril.

<https://doi.org/10.3892/mmr.2012.861>.

Tedeschi, Alessandra, Claudia Baratè, Ernesto Minola, et Enrica Morra. 2007. « Cryoglobulinemia ». *Blood Reviews* 21 (4): 183-200.

<https://doi.org/10.1016/j.blre.2006.12.002>.

Teixeira, Cláudia, Daniela Pina, et Maria Inês Freitas. 2017. « Automated Detection of Unstable Hemoglobin Variants by Sysmex XE-Series Analyzers ». *Clinical Chemistry*

and Laboratory Medicine (CCLM) 55 (11).

<https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0231>.

Zandecki, M., F. Genevieve, J. Gerard, et A. Godon. 2007. « Spurious Counts and Spurious Results on Haematology Analysers: A Review. Part II: White Blood Cells, Red Blood Cells, Haemoglobin, Red Cell Indices and Reticulocytes ». *Clinical and Laboratory Haematology* 29 (1): 21-41.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2257.2006.00871.x>.

ANNEXES

Annexe 1 : Cas clinique n°1 DADOU

❖ **Motif de consultation** : Dadou, un chien labrador mâle castré chimiquement de 7 ans est référé aux urgences de l'ENVT pour pétéchies abdominales, oedème déclive et hématochésie aigüe.

❖ **Commémoratif** : Dadou a été adopté un an et demi plus tôt et depuis, son seul antécédent médical connu est une dermatite atopique actuellement traitée avec de la ciclosporine (spécialité et dose inconnues).

Il mange des croquettes de supermarché, n'est pas vacciné, et reçoit des APE tous les mois et des API tous les 6 mois (le dernier date de 2 mois).

❖ **Examen clinique** :

Etat général	Animal en surpoids, SC = 7/9 T = 39,6°C
A (Airway)	RAS
B (Breathing)	FR = polypnée
C (Circulation)	FC = 128 bpm, muqueuses congestionnées, TRC < 2sec, pouls fémoral net concordant
D (Disability)	RAS
E (Exposure)	2 vomissements de contenu alimentaire dans les 12h Palpation abdominale crâniale souple non douloureuse sans anomalie Palpation abdominale moyenne douloureuse, masse oblongue à droite Palpation caudale tendue plus douloureuse Palpation prostatique sans anomalie Hématochésie au toucher rectal Oedème déclive sur les 4 membres plus marqué sur le postérieur et plus marqué à gauche, Oedème abdominal et du fourreau, oedème facial plus marqué en commissure de la lèvre droite Suffusions en région abdominale, thoracique ventrale, et sur la gouttière jugulaire droite avec une augmentation de leurs surfaces progressives

	<p>en l'espace d'une demi-heure.</p> <p>Saignements légers à la base des dents.</p> <p>Adénomégalie poplitée modérée bilatérale</p>
--	---

❖ **Examens complémentaires :**

Un **premier hémogramme** a été réalisé à l'admission.

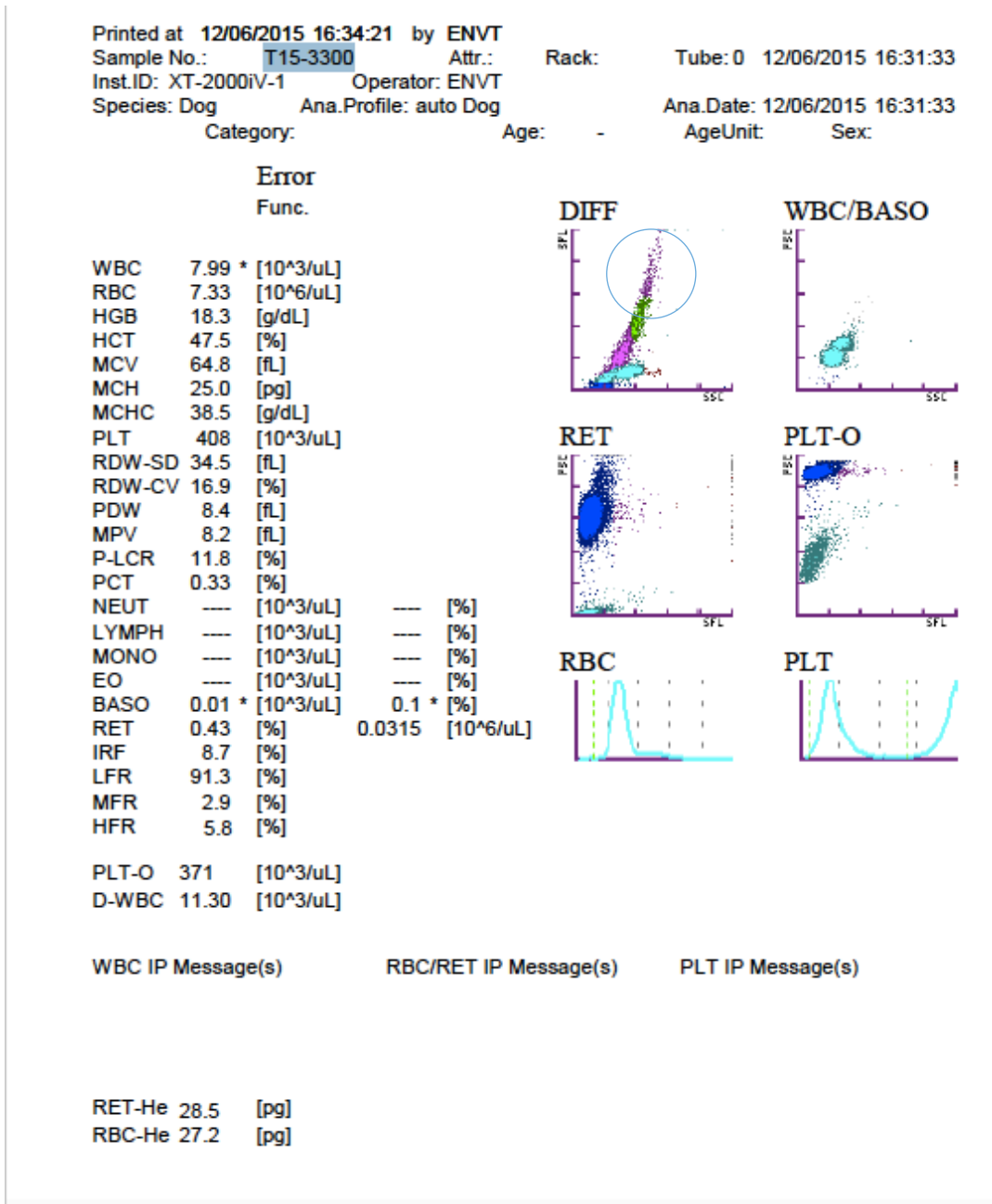


Figure : Hémogramme de Dadou à J1

Δ WBC	1,41
Alarmes ou absence de résultats	Alarme sur la canal BASO (*) mentionnant un problème de comptage des leucocytes Absence de formule leucocytaire
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : cellules de fluorescence anormalement élevée situées au-dessus des monocytes et absence d'une nette délimitation des nuages de points des neutrophiles, lymphocytes et monocytes

- Formule et Anomalies du frottis :

	%	10³/uL
GNN	82 %	6,52
Lymphocytes	12 %	0,95
Monocytes	6 %	0,47

- Présence d'un nombre modéré d'ecchinocytes et de lymphocytes réactionnels clairessemés.
- Présence d'amas plaquettaires.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Présence de lymphocytes réactionnels et sous estimation possible de la numération plaquettaire.

Les **bilans biochimiques et d'hémostase** réalisés à J1 ont donné les résultats suivants :

Tableau : Biochimie de Dadou à J1

	Valeur	Intervalle de Référence
Créatinine (µmol/L)	116	44 - 133
Protéines totales (g/L)	66	48 - 66
Albumine (g/L)	33.3	23 - 39
PAL (U/L)	43	20 - 155
ALAT (U/L)	26	3 - 50
Sodium (mmol/L)	144	138 - 148
Potassium (mmol/L)	4,6	3,2 - 5
Chlore (mmol/L)	115	110 - 118
Bicarbonates (mmol/L)	18	16 - 25
Glucose (g/L)	1,42	0,5 - 1,8
Fibrinogène (g/L)	2.3	1.3 - 4.8
TQ(s)	8.4	7.1- 9
TCA(s)	11.3*	12.8 - 17.2

Une **analyse d'urine** a été réalisée et a montré un pH alcalin anormal et une protéinurie à 1+.

Tableau : Analyse d'urine Dadou à J1

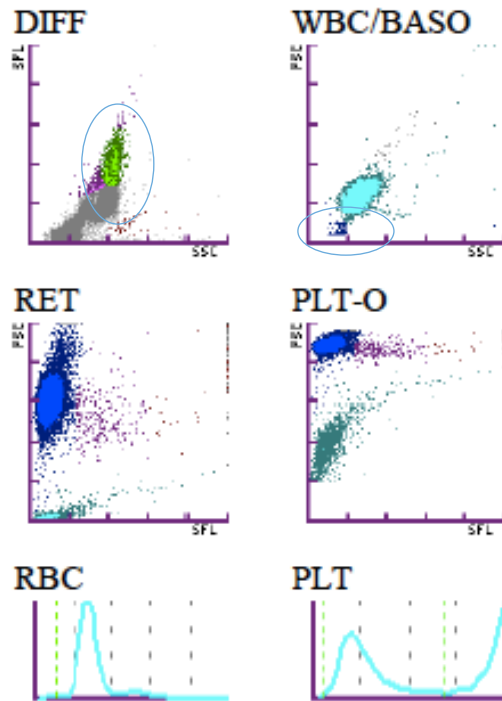
Mode de prélèvement	Miction spontanée
Aspect des urines	Jaunes translucides
Densité (réfractomètre)	1,010
Résultats de la bandelette	pH = 8, protéine : +
Culot	Absence d'anomalies

Un deuxième hémogramme a été réalisé trois jours plus tard (J3) :

Printed at 15/06/2015 13:25:07 by ENV
 Sample No.: T15-3300 Attr.: Rack: Tube: 0 15/06/2015 13:25:06
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENV
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 15/06/2015 13:25:06
 Category: Age: - AgeUnit: Sex:

Positive Error
 Morph. Func.

WBC	19.15 *	[10 ³ /uL]		
RBC	6.43	[10 ⁶ /uL]		
HGB	15.9	[g/dL]		
HCT	42.0	[%]		
MCV	65.3	[fL]		
MCH	24.7	[pg]		
MCHC	37.9	[g/dL]		
PLT	346	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	34.1	[fL]		
RDW-CV	14.9	[%]		
PDW	11.0	[fL]		
MPV	10.1	[fL]		
P-LCR	24.6	[%]		
PCT	0.35	[%]		
NEUT	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
LYMPH	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
MONO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
EO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
BASO	0.02 *	[10 ³ /uL]	0.1 *	[%]
RET	1.24	[%]	0.0797	[10 ⁶ /uL]
IRF	10.8	[%]		
LFR	89.2	[%]		
MFR	5.4	[%]		
HFR	5.4	[%]		
PLT-O	286	[10 ³ /uL]		
D-WBC	29.84	[10 ³ /uL]		



WBC IP Message(s)
 WBC Abn Scattergram

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

RET-He 21.8 [pg]
 RBC-He 26.8 [pg]

Figure : Hémogramme de Dadou à J3

Δ WBC	1,56
Alarmes ou absence de résultats	Alarme sur la canal BASO (*) mentionnant un problème de comptage des leucocytes Alarme sur le canal DIFF mentionnant des nuages de points anormaux Absence de formule leucocytaire
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : cellules de fluorescence anormalement élevée situées au-dessus des monocytes et absence d'une nette délimitation des nuages de points des neutrophiles, lymphocytes et monocytes (zone grise)

- Formule et Anomalies du frottis :

	%
GNN	71
Band cells	9
GNE	0
GNB	0
Lymphocytes	5
Monocytes	15

- Présence de band cells, de neutrophiles modérément toxiques, de quelques mastocytes.
- Hématies anormales présentant une poikilocytose marquée.
- Signes de stress oxydatif.
- Présence d'une substance basophile claire visible sur le fond du frottis (flèches noires) qui semble être à l'origine des modifications de forme des hématies (figure : flèches rouges).

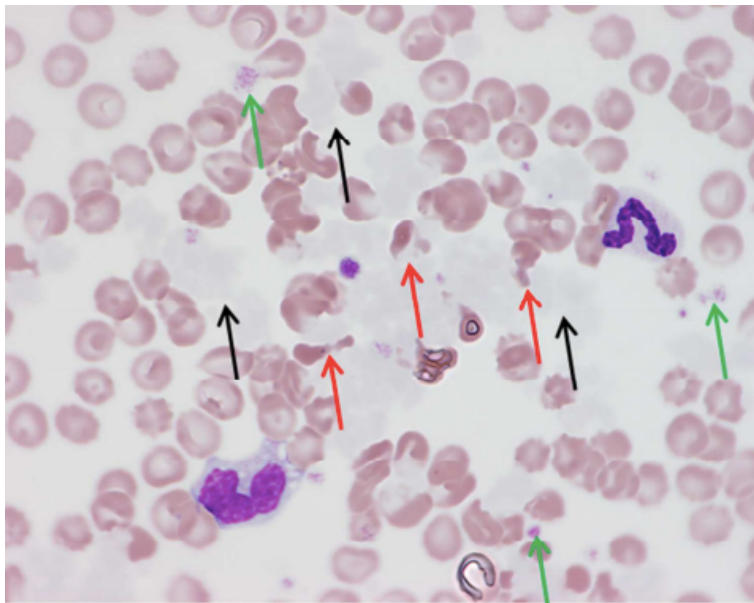


Figure : Frottis sanguin du chien à J3. Objectif x100. Mai Grünwald Giemsa.

- **Synthèse des anomalies hématologiques** : Poïkilocytose très marquée. Neutrophilie et monocytose modérées.

Un bilan biochimique et un bilan d'hémostase ont été également réalisés à J3 :

Tableau : Biochimie de Dadou à J3

	Valeur	Intervalle de Référence
Créatinine (µmol/L)	81,6	44 - 133
Protéines totales (g/L)	51,2	48 - 66
Albumine (g/L)	21,1 *	23 - 39
PAL (U/L)	175*	20 - 155
ALAT (U/L)	52*	3 -50
ASAT (U/L)	115*	1 - 37
CK (U/L)	> 2000*	25 - 467
GGT (U/L)	<5	5 - 25
Bilirubine totale (µmol/L)	32 *	1,7 - 12
Sodium (mmol/L)	143	138 - 148
Potassium (mmol/L)	5	3,2 - 5
Chlore (mmol/L)	117	110 - 118
Bicarbonates (mmol/L)	20	16 - 25

Ca ionisé (mmol/L)	1,29	1,2- 1,5
Phosphates (mmol/L)	1,77	0,7 - 2,6
Fibrinogène (g/L)	3,04	1.3 - 4.8
TQ(s)	10*	7.1- 9
TCA (s)	17,7*	12.8 - 17.2
D-dimères (mg/L)	0,79	0 - 0,56

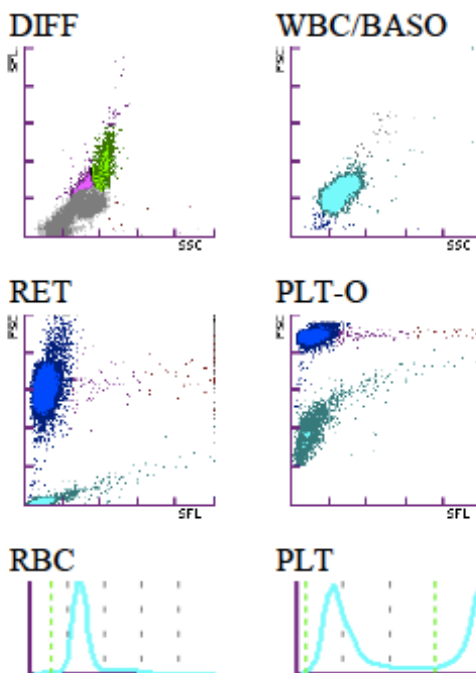
Une augmentation modérée de la bilirubine totale et de l'activité des ASAT, ainsi qu'une augmentation des temps de coagulation (TQ, TCA) et des D-dimères ont été observées.

A **l'échographie**, un épaissement marqué et généralisé de la paroi colique avec conservation de la structure en couche a été mis en évidence.

Un nouvel **hémogramme** a été réalisé le 17/06/2015 (J5) :

Printed at 17/06/2015 15:19:25 by ENVT
 Sample No.: t15-3300 Attr.: Rack: Tube: 0 17/06/2015 15:19:24
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 17/06/2015 15:19:24
 Category: Age: - AgeUnit: Sex:

Positive Morph.	Error Func.		
WBC	32.11 *	[10 ³ /uL]	
RBC	4.98	[10 ⁶ /uL]	
HGB	12.1	[g/dL]	
HCT	32.2	[%]	
MCV	64.7	[fL]	
MCH	24.3	[pg]	
MCHC	37.6	[g/dL]	
PLT	371	[10 ³ /uL]	
RDW-SD	32.0	[fL]	
RDW-CV	13.8	[%]	
PDW	9.3	[fL]	
MPV	9.8	[fL]	
P-LCR	21.2	[%]	
PCT	0.36	[%]	
NEUT	---	[10 ³ /uL]	---
LYMPH	---	[10 ³ /uL]	---
MONO	---	[10 ³ /uL]	---
EO	---	[10 ³ /uL]	---
BASO	0.02 *	[10 ³ /uL]	0.1 * [%]
RET	0.58	[%]	0.0289 [10 ⁶ /uL]
IRF	42.5	[%]	
LFR	57.5	[%]	
MFR	10.4	[%]	
HFR	32.1	[%]	
PLT-O	352	[10 ³ /uL]	
D-WBC	66.47	[10 ³ /uL]	



WBC IP Message(s)
 WBC Abn Scattergram

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

Figure : Hémogramme de Dadou à J5

Δ WBC	2,07
Alarmes ou absence de résultats	<p>Alarme sur la canal BASO (*) mentionnant un problème de comptage des leucocytes</p> <p>Alarme sur le canal DIFF mentionnant des nuages de points anormaux</p> <p>Absence de formule leucocytaire</p>
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : cellules de fluorescence anormalement élevée situées au-dessus des monocytes et absence d'une nette délimitation des nuages de points des neutrophiles, lymphocytes et monocytes (zone grise)

- Formule et Anomalies du frottis :

	%	10 ³ / μ L
GNN	84	27
Band cells	0	/
GNE	0	/
GNB	0	/
Lymphocytes	4	1,3
Monocytes	12	3,9
Erythroblastes 1/100 CB	1/100 CB	/
Réticulocytes (%)	0,8	/
Taux de réticulocyte corrigé	0,43	

- Présence de band cells, de neutrophiles modérément toxiques, de quelques mastocytes.
- Hématies anormales présentant une poïkilocytose marquée.
- Signes de stress oxydatif.
- Présence d'une substance basophile claire visible sur le fond du frottis qui semble être à l'origine des modifications de forme des hématies.
- Présence d'amas plaquettaires composés de plaquettes complètement dégranulées ou petits amas fibrineux en quantité importante.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Légère anémie normocytaire normochrome non régénérative, poïkilocytose marquée avec de nombreuses hématies très déformées. Leucocytose neutrophilique et monocytose.

Plusieurs hypothèses ont été émises sur la nature de la substance amorphe déformant les hématies : fibrine, agrégats plaquettaires dégranulées ou cryoglobulines.

Il a été suspecté que la forte discordance de la numération leucocytaire évaluée par les deux méthodes de comptage de l'analyseur (32110/ μ L vs 66470/ μ L), était probablement liée à la présence de cette substance.

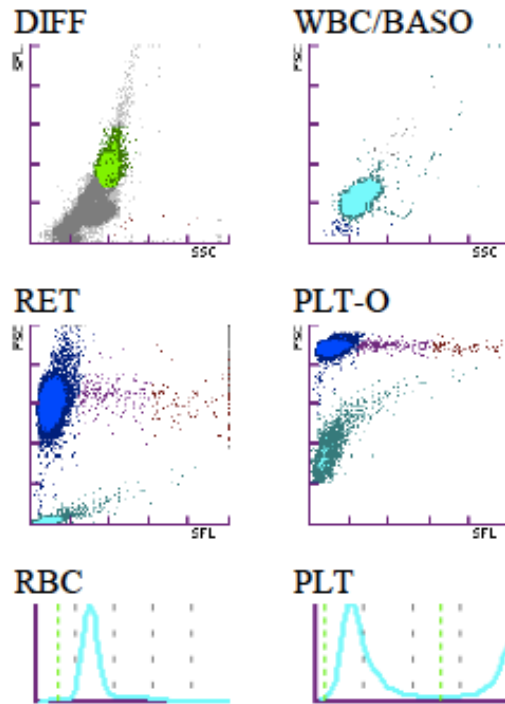
Tableau : Biochimie de Dadou à J5

	Valeur	Intervalle de Référence
Créatinine (µmol/L)	68,9	44 - 133
Protéines totales (g/L)	56,5	48 - 66
Albumine (g/L)	21,4* / 23	23 - 39
Glucose (mmol/L)	8,75*	3,7 - 8,2
PAL (U/L)	168*	20 - 155
ALAT (U/L)	144*	3 - 50
ASAT (U/L)	122*	1 - 37
CK (U/L)	3199*	25 - 467
GGT (U/L)	8	5 - 25
Bilirubine totale (µmol/L)	12,7*	1,7 - 12
Sodium (mmol/L)	141	138 - 148
Potassium (mmol/L)	4,8	3,2 - 5
Chlorures (mmol/L)	114	110 - 118
Fibrinogène (g/L)	2,66	1.3- 4.8
TQ(s)	8,5	7.1- 9
TCA (s)	16,8	12.8 - 17.2
D-dimères (mg/L)	0,35	0 - 0,56

Un **hémogramme** de contrôle a été réalisé à J7 :

Printed at 19/06/2015 09:37:43 by ENVT
 Sample No.: t15-3300 Attr.: Rack: Tube: 0 19/06/2015 09:37:42
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 19/06/2015 09:37:42
 Category: Age: - AgeUnit: Sex:

Positive Morph.	Error Func.		
WBC	23.52 *	[10 ³ /uL]	
RBC	4.50	[10 ⁶ /uL]	
HGB	10.9	[g/dL]	
HCT	30.5	[%]	
MCV	67.8	[fL]	
MCH	24.2	[pg]	
MCHC	35.7	[g/dL]	
PLT	372	[10 ³ /uL]	
RDW-SD	32.6	[fL]	
RDW-CV	13.8	[%]	
PDW	9.4	[fL]	
MPV	8.8	[fL]	
P-LCR	16.4	[%]	
PCT	0.33	[%]	
NEUT	---	[10 ³ /uL]	--- [%]
LYMPH	---	[10 ³ /uL]	--- [%]
MONO	---	[10 ³ /uL]	--- [%]
EO	---	[10 ³ /uL]	--- [%]
BASO	0.01 *	[10 ³ /uL]	0.0 * [%]
RET	1.39	[%]	0.0626 [10 ⁶ /uL]
IRF	37.9	[%]	
LFR	62.1	[%]	
MFR	19.7	[%]	
HFR	18.2	[%]	
PLT-O	375	[10 ³ /uL]	
D-WBC	46.36	[10 ³ /uL]	



WBC IP Message(s)
WBC Abn Scattergram

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

Figure : Hémogramme de Dadou à J7

Δ WBC	1,97
Alarmes ou absence de résultats	Alarme sur la canal BASO (*) mentionnant un problème de comptage des leucocytes Alarme sur le canal DIFF mentionnant des nuages de points anormaux
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : absence d'une nette délimitation des nuages de points des neutrophiles, lymphocytes et monocytes (zone grise)

- Formule et Anomalies du frottis :

	%	10 ³ /uL
GNN	80	18,8
Band cells	3	0,7
GNE	0	/
GNB	0	/
Lymphocytes	4	0,9
Monocytes	13	3,1
Réticulocytes (%)	3	/
Taux de réticulocyte corrigé	0,83	

- Présence de band cells, de neutrophiles modérément toxiques, de quelques mastocytes.
- Hématies anormales présentant une poïkilocytose marquée.
- Signes de stress oxydatif.
- Présence d'une substance basophile claire visible sur le fond du frottis (flèches noires) qui semble être à l'origine des modifications de forme des hématies.
- Présence d'amas plaquettaires.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Anémie normocytaire normochrome hyporégénérative, poïkilocytose marquée avec de nombreuses hématies très déformées. Leucocytose neutrophilique et courbe de Arneth déviée à gauche, monocytose, eosinopénie et lymphopénie.

Le **bilan biochimique** à J7 a montré une légère hypoalbuminémie, une hyperglycémie, une hyperbilirubinémie et une augmentation des activités enzymatiques des PAL, ASAT, CK.

Tableau : Biochimie de Dadou à J7

	Valeur	Intervalle de Référence
Créatinine (µmol/L)	76,4	44 - 133
Protéines totales (g/L)	55,1	48 - 66
Albumine (g/L)	21,3	23 - 39
Glucose (mmol/L)	10,15*	3,7 - 8,2
PAL (U/L)	350*	20 - 155
ALAT (U/L)	47	3 - 50
ASAT (U/L)	72*	1 - 37
CK (U/L)	914*	25 - 467
GGT (U/L)	10	5 - 25
Bilirubine totale (µmol/L)	13,3 *	1,7 - 12
Sodium (mmol/L)	142	138 - 148
Potassium (mmol/L)	4,4	3,2 - 5
Chlore (mmol/L)	114	110 - 118
Bicarbonates (mmol/L)	19	16 - 25
Ca ionisé (mmol/L)	1,19*	1,2- 1,5
Phosphates (mmol/L)	1,51	0,7 - 2,6
Fibrinogène (g/L)	3,81	1.3 - 4.8
TQ(s)	8,5	7.1 - 9
TCA (s)	17,4*	12.8 - 17.2
D-dimères (mg/L)	0,41	0 - 0,56

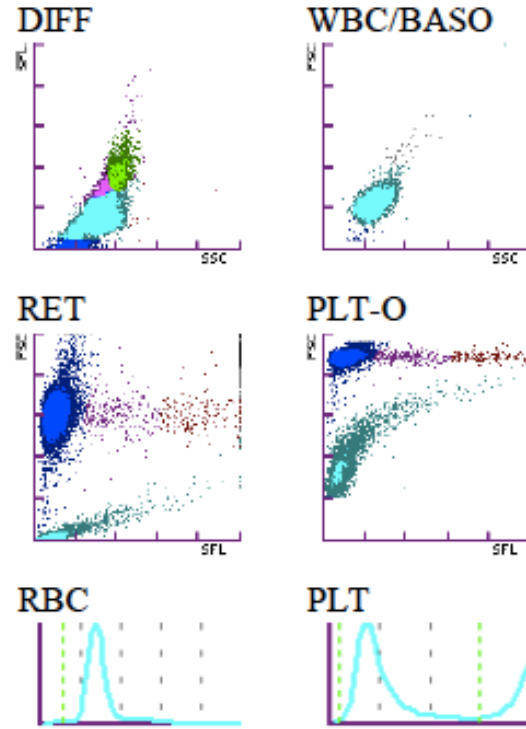
Un nouvel **hémogramme** a été réalisé à J10 :

Printed at 22/06/2015 11:16:48 by ENVT
 Sample No.: t15-3300 Attr.:
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog
 Category:

Rack: Tube: 0 22/06/2015 11:16:46
 Ana.Date: 22/06/2015 11:16:46
 Age: - AgeUnit: Sex:

Negative

WBC	50.48	[10 ³ /uL]		
RBC	3.93	[10 ⁶ /uL]		
HGB	9.4	[g/dL]		
HCT	26.6	[%]		
MCV	67.7	[fL]		
MCH	23.9	[pg]		
MCHC	35.3	[g/dL]		
PLT	403	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	33.1	[fL]		
RDW-CV	13.9	[%]		
PDW	9.4	[fL]		
MPV	9.4	[fL]		
P-LCR	19.6	[%]		
PCT	0.38	[%]		
NEUT	45.49	[10 ³ /uL]	90.1	[%]
LYMPH	1.69	[10 ³ /uL]	3.3	[%]
MONO	3.26	[10 ³ /uL]	6.5	[%]
EO	0.01	[10 ³ /uL]	0.0	[%]
BASO	0.03	[10 ³ /uL]	0.1	[%]
RET	1.85	[%]	0.0727	[10 ⁶ /uL]
IRF	44.2	[%]		
LFR	55.8	[%]		
MFR	27.6	[%]		
HFR	16.6	[%]		
PLT-O	428	[10 ³ /uL]		
D-WBC	61.49	[10 ³ /uL]		



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

Figure : Hémogramme de Dadou à J10

Δ WBC	1,22
Alarmes ou absence de résultats	Absence d'alarme
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : absence d'une nette délimitation des nuages de points des neutrophiles, lymphocytes et monocytes.

- Formule et Anomalies du frottis :

- Hématies anormales présentant une poïkilocytose marquée.

- Signes de stress oxydatif.
- Présence d'une substance basophile claire visible sur le fond du frottis (flèches noires) qui semble être à l'origine des modifications de forme des hématies.
- Présence d'amas plaquettaires.

- **Synthèse des anomalies hématologiques :** Anémie normocytaire normochrome régénérative, poïkilocytose marquée avec de nombreuses hématies très déformées, Leucocytose neutrophilique et courbe de Arneth déviée à gauche, monocytose, eosinopénie et lymphopénie.

Le **bilan biochimique** à J10, a permis de confirmer l'hyperglycémie, l'augmentation de l'activité enzymatique des ALAT, ASAT, PAL, CK et une augmentation des triglycérides.

Tableau : Biochimie de Dadou à J10

	Valeur	Intervalle de Référence
Protéines totales (g/L)	55,8	48 - 66
Albumine (g/L)	22,8 *	23 - 39
Glucose (mmol/L)	18,59*	3,7 - 8,2
PAL (U/L)	357*	20 - 155
ALAT (U/L)	87*	3 - 50
ASAT (U/L)	101*	1 - 37
CK (U/L)	1356*	25 - 467
GGT (U/L)	10	5 - 25
Bilirubine totale (µmol/L)	8 ,8	1,7 - 12
Cholestérol (mmol/L)	4,74	3,3 - 9,3
Triglycérides (mmol/L)	1,37*	0,2 - 1,3
Sodium (mmol/L)	145	138 - 148
Potassium (mmol/L)	4,6	3,2 - 5
Chlore (mmol/L)	113	110 - 118
Bicarbonates (mmol/L)	19	16 - 25

Des **radiographies thoraciques** répétées ont révélé de légères scissures interlobaires et un pattern alvéolaire dans la partie ventrale du lobe crânien gauche et du lobe moyen droit, évoquant une bronchopneumonie avec un épanchement thoracique léger.

L'analyse cytologique de l'épanchement était compatible avec un transsudat pur et les analyses aérobies et anaérobies se sont révélées négatives. La concentration de protéine C sérique était normale. La concentration sérique en troponine I était considérablement augmentée (7,47ng /mL (IR 0 - 0,11)).

L'échocardiographie n'a révélé aucun épanchement péricardique, aucun signe d'endocardite ni de dysfonctionnement diastolique ou systolique.

❖ **Hypothèses diagnostiques :**

Un œdème de la face ainsi que l'ensemble des signes cliniques observés à l'admission, ont permis de suspecter un syndrome inflammatoire à réponse systémique (SIRS), avec une vascularite probablement d'origine infectieuse.

❖ **Suivi :**

L'état clinique du chien ne s'est pas amélioré pendant l'hospitalisation, avec une aggravation de l'œdème et de l'ecchymose, et une augmentation de la fréquence respiratoire.

L'hypothèse de cryoglobulines a été explorée en prélevant de nouveaux spécimens de sang à J11 dans trois tubes distincts pour l'hématologie afin de réaliser un hémogramme complet à température ambiante, à 4°C et à 37 °C.

Tableau : Evaluation du nombre de leucocytes en fonction de la température de stockage de l'échantillon

	4 °C	20 °C	37 °C.
WBC/ BASO (10 ⁹ /L)	31,1	30,6	31,9
DIFF WBC (10 ⁹ /L)	34,8	36,1	30,7
Δ WBC	1,12	1,18	0,96
Diff WBC -B - DIFF	3,7	5,5	1,2

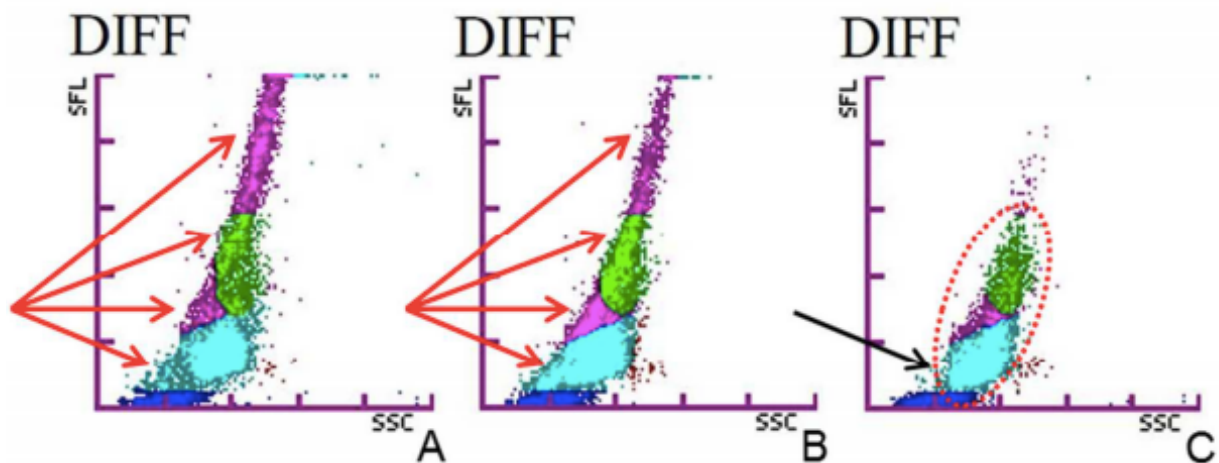


Figure : Diagrammes de dispersion des canaux WBC DIFF du chien à 4 ° C (A), à température ambiante (B) et à 37 ° C (C)

À 4 ° C et à température ambiante, de nombreux points roses dans la partie supérieure du diagramme DIFF et un continuum entre la zone de débris étaient visibles. Des neutrophiles, des lymphocytes et des monocytes ont pu être observés (flèches rouges).

Après chauffage à 37 ° C, le continuum entre les zones de débris et les autres groupes n'est plus apparent (flèche noire).

En raison de la détérioration de son état clinique, le chien a été euthanasié et un examen post mortem a été réalisé. Les examens anatomopathologiques ont révélé une vascularite systémique, septique, neutrophile et nécrosante avec une thrombose, et une péricardite sévère, septique, subaiguë et fibrino-suppurative. La péricardite septique pourrait expliquer la vascularite et la cryoglobulinémie.

Annexe 2 : Cas clinique n°2 CHINA

❖ **Motif de consultation** : China est une chienne bouledogue français femelle non stérilisée de 11 ans, présentée au service des urgences pour pertes d'équilibre, comportement de tourner en rond, abatement et agitation marquée ; ces symptômes sont apparus soudainement, 48 heures auparavant.

❖ **Commémoratif** : elle présente une faiblesse du train arrière depuis environ 3 ans (affaissement du train arrière lorsqu'elle est en position debout et arrêtée, par exemple lors de la prise de nourriture), sans douleur associée.

Un mois avant son admission, elle a soudainement présenté une ataxie et des difficultés à se déplacer, toujours sans douleur associée. Ces symptômes ont motivé une consultation, le 06/09, chez son vétérinaire traitant.

De nouveaux symptômes neurologiques sont ensuite apparus brutalement dont l'agitation, la désorientation, le comportement de tourner en rond, de pousser au mur, l'ataxie marquée associée à des gémissements, des aboiements etc. Elle présentait également de la dysorexie et de l'adypsie.

❖ Examen clinique :

Etat général	Score corporel de 4/9, poids : 9,2 kg, T 38,5 °C
A (Airway)	RAS
B (Breathing)	FR = 20 mpm, absence d'anomalie à l'auscultation pulmonaire
C (Circulation)	FC = 92 bpm, absence d'anomalie à l'auscultation cardiaque, pouls fémoral net et concordant, muqueuses roses et humides, TRC = 2 secondes
D (Disability)	<ul style="list-style-type: none">• <i>Etat de conscience</i> : désorientée, réponse retardée aux stimuli extérieurs• <i>Démarche, posture</i> : marche en cercles larges à gauche, ataxie marquée des 4 membres, chute du côté gauche, port de tête tourné à gauche, pousse au mur.• <i>Nerfs crâniens</i> : cécité bilatérale associée à une cataracte bilatérale sévère (réponse à la menace et réflexes protomoteurs absents sur les deux yeux), nystagmus physiologique et réponses à la stimulation du

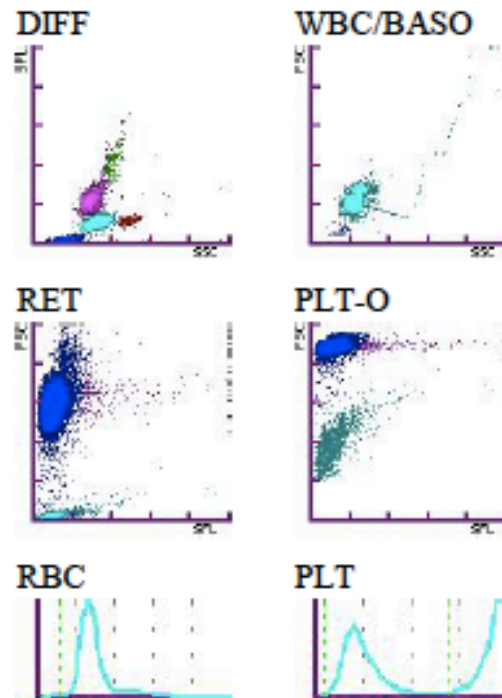
	<p>septum nasal inconstantes. Absence d'anomalie sur le reste de l'examen des nerfs crâniens.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Proprioception</i> : placer proprioceptif normal pour l'antérieur droit, placers absents sur les autres membres. • <i>Réflexes spinaux</i> : réflexes normaux sur les 4 membres, réflexes périnéaux et panculaire normaux. <p>Après l'examen neurologique, une atteinte crâniale à C5, probablement au niveau du diencephale, est très fortement suspectée.</p>
E (Exposure)	<p>Examen de l'appareil génital : nodules de 2 cm de diamètre en M5 à droite.</p> <p>Examen ophtalmologique : ulcère cicatrisé à l'œil gauche, néoformation irienne à l'œil droit pouvant évoquer un processus néoplasique de type mélanome irien, présence d'une cataracte mure bilatérale.</p>

❖ **Examens complémentaires :**

Un premier **hémogramme** a été réalisé à J1 :

Printed at 26/09/2016 15:53:33 by ENVT
 Sample No.: T16-4659 Attr.: Rack: Tube: 0 26/09/2016 15:53:17
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 26/09/2016 15:53:17
 Category: Age: - AgeUnit: Sex:

	Error	Func.		
WBC	4.48 *	[10 ³ /uL]		
RBC	6.66	[10 ⁶ /uL]		
HGB	18.0	[g/dL]		
HCT	42.5	[%]		
MCV	63.8	[fL]		
MCH	24.0	[pg]		
MCHC	37.6	[g/dL]		
PLT	342	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	35.7	[fL]		
RDW-CV	17.9	[%]		
PDW	10.0	[fL]		
MPV	9.5	[fL]		
P-LCR	20.9	[%]		
PCT	0.33	[%]		
NEUT	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
LYMPH	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
MONO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
EO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
BASO	0.00 *	[10 ³ /uL]	0.0 *	[%]
RET	0.70	[%]	0.0466	[10 ⁶ /uL]
IRF	10.2	[%]		
LFR	89.8	[%]		
MFR	6.6	[%]		
HFR	3.6	[%]		
PLT-O	373	[10 ³ /uL]		
D-WBC	9.13	[10 ³ /uL]		



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

RET-He 28.3 [pg]
 RBC-He 25.6 [pg]

Figure : hémogramme de CHINA à J1

Δ WBC	2,04
Alarmes ou absence de résultats	Alarme sur la canal BASO (*) mentionnant un problème de comptage des leucocytes Absence de formule leucocytaire sans alarme
Anomalies visuelles des nuages de points	- BASO : trainée de points sigmoïdes en arrière des points correspondant aux leucocytes

- Formule et Anomalies du frottis :

	%
GNN	66
GNE	3
GNB	0
Lymphocytes	29
Monocytes	2

- Présence de lymphocytes réactionnels.
- Présence de corps de Howell-Jolly.
- Présence d'amas plaquettaires en faible quantité.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Corps de Howell-Jolly en nombre augmenté associés à la présence de lymphocytes réactionnels.

Un **examen biochimique** a également été réalisé à J1 :

Tableau : Biochimie de CHINA à J1

	Valeurs	Intervalles de référence
protéines totales (g/L)	50	48 - 66
Albumine (g/L)	35	23 - 39
ALB / GLO	2,3	
µHt (%)	42	
Glucose (g/L)	1,5	0,5 - 1,8
Créatinine (µmol/L)	70,4	44 - 133
Sodium (mmol/L)	150*	138 - 148
Potassium (mmol/L)	3,3	3,2 - 5,0
Chlorure (mmol/L)	113	110 - 118
ALAT (U/L)	77*	0,3 - 50
PAL (U/L)	54	20 - 155
Ammonium (µmol/L)	7	< 98
Triglycérides (mmol/L)	0,53	0,2 - 1,3
Cholestérol (mmol/L)	4,14	3.3 - 9.3

Un **scanner** a montré une masse dans la région de la selle turcique compatible avec un processus tumoral de l'hypophyse de type macroadénome ou macroadénocarcinome associé à une hydrocéphalie modérée congénitale et une anomalie de la taille des glandes thyroïdes, compatible le plus probablement avec une hyperplasie. Cette chienne présentait également une otite chronique externe et moyenne bilatérale.

Le **bilan d'extension** thoracique était négatif.

❖ **Suivi :**

Au vu de la forte suspicion de processus tumoral, les propriétaires ont décidé d'**euthanasier** la chienne.

Annexe 3 : Cas clinique n°3 FLIPPER

❖ **Motif de consultation** : est un chien golden retriever mâle entier de 12 ans, présenté pour le suivi d'une infection du tractus urinaire diagnostiquée le 7 janvier 2015. Une première bactériologie avait révélé la présence d'E.Coli sensibles à la Marbofloxacin. Un contrôle a permis d'identifier des Enterobacter cloacae sensibles uniquement à la gentamycine et à la cefquinome. Depuis le dernier contrôle, 15 jours auparavant, la propriétaire a rapporté que l'état général de Flipper s'est amélioré. Il ne présentait plus d'incontinence urinaire (la propriétaire retrouvait des gouttes d'urines dans la maison) mais ses mictions restaient encore saccadées. De plus, Flipper avait tendance à s'essouffler lors des promenades et a présenter régulièrement un bruit de cornage.

❖ **Examen clinique** :

Etat général	Score corporel = 4/9 Poids = 38kg T = 38,1°C
A (Airway)	Suspicion de parésie laryngée.
B (Breathing)	Polypnée, auscultation sans anomalie, arythmie sinusale respiratoire.
C (Circulation)	FC = 70bpm, auscultation sans anomalie, muqueuses roses et humides, TRC = 2s, pouls fémoral net et concordant.
D (Disability)	RAS
E (Exposure)	Vessie ferme.

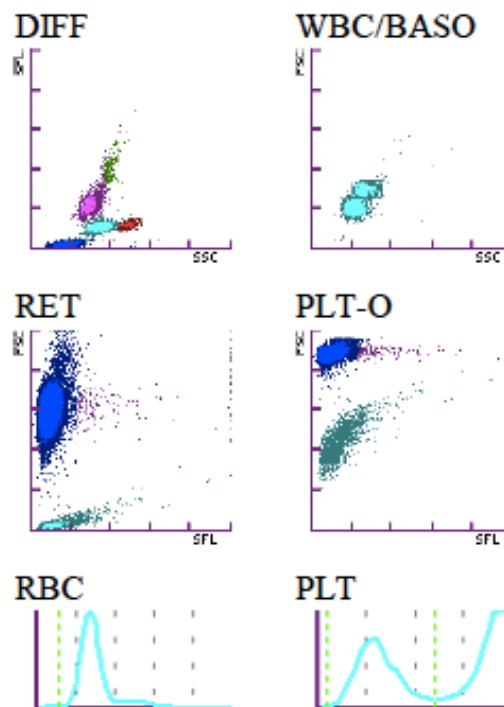
❖ **Examens complémentaires** :

Un **hémogramme** a été réalisé à J1 :

Printed at 10/03/2015 11:04:58 by ENVT
 Sample No.: T06-2272 Attr.: Rack: Tube: 0 10/03/2015 11:04:57
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 10/03/2015 11:04:57
 Category: Age: - AgeUnit: Sex:

Negative

WBC	5.00	[10 ³ /uL]		
RBC	6.35	[10 ⁶ /uL]		
HGB	14.8	[g/dL]		
HCT	40.9	[%]		
MCV	64.4	[fL]		
MCH	23.3	[pg]		
MCHC	36.2	[g/dL]		
PLT	279	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	37.7	[fL]		
RDW-CV	17.0	[%]		
PDW	14.1	[fL]		
MPV	11.8	[fL]		
P-LCR	43.2	[%]		
PCT	0.33	[%]		
NEUT	3.08	[10 ³ /uL]	61.6	[%]
LYMPH	1.35	[10 ³ /uL]	27.0	[%]
MONO	0.21	[10 ³ /uL]	4.2	[%]
EO	0.36	[10 ³ /uL]	7.2	[%]
BASO	0.00	[10 ³ /uL]	0.0	[%]
RET	0.53	[%]	0.0337	[10 ⁶ /uL]
IRF	7.9	[%]		
LFR	92.1	[%]		
MFR	5.5	[%]		
HFR	2.4	[%]		
PLT-O	282	[10 ³ /uL]		
D-WBC	5.98	[10 ³ /uL]		



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

RET-He 27.5 [pg]
 RBC-He 25.9 [pg]

Figure : hémogramme de FLIPPER à J1

Δ WBC	1,2
Alarmes ou absence de résultats	Absence d'alarme
Anomalies visuelles des nuages de points	Absence d'anomalie

- Formule et Anomalies du frottis :

	%	10 ³ /uL
GNN	46	2,3
Bands cells	0	0
GNE	9	0,45
GNB	0	0
Lymphocytes	39	1,95
Monocytes	6	0,3
Erythroblastes	0/100GB	

- Présence de quelques lymphocytes et monocytes réactionnels.
- Présence de quelques amas plaquettaires et macroplaquettes.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Leucopénie neutropénique limite.

Une biochimie a été réalisée lors du contrôle et n'a montré aucune anomalie.

Tableau : Biochimie de FLIPPER à J1

	Valeur	Intervalle de Référence
Créatinine (µmol/L)	68,6	44 - 133
Sodium (mmol/L)	139	138 - 148
Potassium (mmol/L)	4,4	3,2 - 5
Chlorure (mmol/L)	114	110 - 118
Bicarbonates (mmol/L)	22	16 - 25

Une **analyse d'urine** a été réalisée.

Tableau : Analyse d'urine de Flipper

Mode de prélèvement	Cystocentèse
Aspect des urines	Jaunes translucides
Densité (réfractomètre)	1,021
Résultats de la bandelette	pH = 7, protéine : +
Culot	Hématies, leucocytes, cellules, quelques cristaux de bilirubine, nombreux spermatozoïdes.
Bactériologie	Négative

Une protéinurie au moins en partie d'origine post-rénale (possiblement surestimée par la spermaturie) a été identifiée, ainsi que la présence de débris granuleux pouvant évoquer des cylindres, éventuellement compatibles avec une souffrance rénale.

Des **mesures vésicales** ont été réalisées par échographie :

- 12h : après miction : 2cm x 3,6cm x 5cm => volume résiduel = 0,49mL/kg [0,2-0,3]
- 17h : après miction : 6,5 x 3,9 x 7,5 cm = 2,6 mL/kg

Une atonie vésicale a été identifiée.

Au vu des analyses de ce chien et de son affection, rien ne semble pouvoir expliquer cette différence de mesure entre le canal BASO-WBC et DIFF-WBC.

Annexe 4 : Cas clinique n°4 JELSY

❖ **Motif de consultation** : Jelsy est une chienne croisée labrador femelle de 17kg, présentée en consultation d'urgence pour vomissements et diarrhée évoluant depuis 3 jours. 3 jours auparavant, Jelsy semblait abattue et présentait une dysorexie et une diarrhée sans hématochésie. Elle a commencé à vomir toutes les nuits (au départ, le contenu des vomissements était alimentaire). Depuis, son état s'est aggravé. Les propriétaires ont consulté leur vétérinaire qui a fait une radiographie abdominale ne permettant pas de mettre en évidence un corps étranger. Il a référé la chienne à l'école vétérinaire de Toulouse. Jelsy a mangé, il y a 4 jours, un morceau de charbon de barbecue sans aucune répercussion clinique sur le moment. Cependant, un toxique ne peut être exclu compte tenu du mode de vie de la chienne, même si les propriétaires n'ont pas réalisé de traitement particulier.

❖ **Examen clinique :**

Etat général	Etat de choc, SC=3/9, Déshydratation à plus de 8%, T=40,7°C
A (Airway)	Suspicion de parésie laryngée.
B (Breathing)	FR=50mpm, bruits respiratoires augmentés.
C (Circulation)	FC=160 bpmn sans anomalie à l'auscultation, muqueuses pâles et collantes, pouls filant.
D (Disability)	Très abattue.
E (Exposure)	Palpation abdominale très douloureuse avec une anse très dure tubulaire au niveau de l'abdomen moyen.

❖ **Examens complémentaires :**

Un **hémogramme** a été réalisé à J1 :

Printed at 10/06/2015 14:06:21 by ENVT

Sample No.: T15-3253 Attr.: Rack: Tube: 0 10/06/2015 14:06:20

Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT

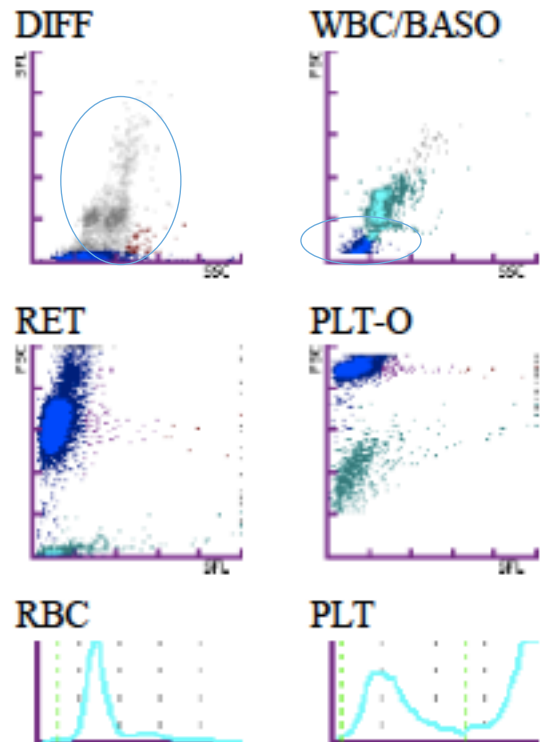
Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 10/06/2015 14:06:20

Category: Age: - AgeUnit: Sex:

Positive

Morph.

WBC	3.69	[10 ³ /uL]		
RBC	9.99	[10 ⁶ /uL]		
HGB	24.7	[g/dL]		
HCT	64.9	@[%]		
MCV	65.0	[fL]		
MCH	24.7	[pg]		
MCHC	38.1	[g/dL]		
PLT	207	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	38.3	[fL]		
RDW-CV	19.3	[%]		
PDW	15.6	[fL]		
MPV	11.3	[fL]		
P-LCR	35.7	[%]		
PCT	0.23	[%]		
NEUT	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
LYMPH	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
MONO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
EO	0.08	[10 ³ /uL]	2.2	[%]
BASO	0.03	[10 ³ /uL]	0.8	[%]
RET	0.37	[%]	0.0370	[10 ⁶ /uL]
IRF	7.8	[%]		
LFR	92.2	[%]		
MFR	5.6	[%]		
HFR	2.2	[%]		
PLT-O	227	[10 ³ /uL]		
D-WBC	4.42	[10 ³ /uL]		



WBC IP Message(s)
WBC Abn Scattergram

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

RET-He 28.5 [pg]
RBC-He 28.0 [pg]

Figure : hémogramme de JELSY à J1. Présence d'une zone grise sur le diagramme DIFF et d'une continuité anormale entre les leucocytes et les débris sur le diagramme BASO (cercles bleus).

Δ WBC	1,2
Alarmes ou absence de résultats	Alarme sur le canal DIFF mentionnant des nuages de points anormaux Absence de formule leucocytaire Alarme concernant l'hématocrite
Anomalies visuelles des nuages de points	- BASO : Absence de séparation nette entre la zone de débris cellulaires et la zone des leucocytes - DIFF : Absence de séparation nette entre les neutrophiles, lymphocytes et monocytes (zone grise)

- Formule et Anomalies du frottis :

	%	10 ³ /uL
GNN	38	2,5
Bands cells	30	
GNE	0	0
GNB	0	0
Lymphocytes	22	0,81
Monocytes	10	0,36

- Présence de beaucoup de Band cells, de lymphocytes et de quelques mastocytes circulants.
- Présence d'hématies en rouleaux.
- Présence d'amas plaquettaires.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Polyglobulie, leucopénie neutropénique avec courbe d'Arneth déviée à gauche.

Une **radiographie** et une **échographie** ont été réalisées. Les images étaient en faveur d'une intussusception ; l'hypothèse du corps étranger a été exclue.

Le bilan **biochimique** a révélé une créatinémie augmentée, une augmentation de l'activité enzymatique PAL et ASAT. La présence d'une hypochlorémie a été identifiée.

Tableau : Biochimie de JELSY à J1

	Valeurs	Intervalle de référence
protéines totales (g/L)	54	48 - 66
Albumine (g/L)	32,5	23 - 39
ALB / GLO	1,5	
Créatinine ($\mu\text{mol/L}$)	168,4	44 - 133
Sodium (mmol/L)	140	138 - 148
Potassium (mmol/L)	3,6	3,2 - 5,0
Chlorure (mmol/L)	108*	110 - 118
ALAT (U/L)	2253*	0,3 - 50
PAL (U/L)	421*	20 - 155

❖ **Hypothèses diagnostiques :**

L'hypothèse la plus probable était une parvovirose compliquée d'une intussusception.

❖ **Suivi :**

La chienne a été présentée en choc hypovolémique/septique et son état ne s'est pas amélioré malgré les traitements mis en place. La chienne est décédée avant qu'un diagnostic de certitude n'ait pu être posé.

Annexe 5 : Cas clinique n°5 MAYA

❖ **Motif de consultation** : Maya est une chienne non stérilisée de 11 ans, présentée en examen complémentaire de médecine interne pour réalisation d'un bilan d'extension suite à la découverte le 5 octobre d'une masse sur la rate. Une infection du tractus urinaire avait aussi été diagnostiquée. Maya a été présentée pour une dysorexie importante, un abattement et une PuPd.

❖ **Examen clinique :**

Etat général	Bon état général, poids =31kg, Vigilance normale, T = 39,7°C
A (Airway)	RAS
B (Breathing)	Polypnée, auscultation normale.
C (Circulation)	FC = 124 bpm, muqueuses rosées humides, TRC < 2s, Pouls fémoral net et concordant, absence d'anomalie à l'auscultation.
D (Disability)	RAS
E (Exposure)	<ul style="list-style-type: none">• Palpation abdominale : souple et non douloureuse, volumineuse masse en portion abdominale crâniale gauche.• Autres :<ul style="list-style-type: none">- épiphora muqueux au niveau de l'oeil droit, chronique (1 mois).- masse buccale de 3mm de diamètre, noire, surélevée, dure, non douloureuse à la palpation en face interne de la babine supérieure gauche.- masses mammaires (nodule granuleux de 5 cm de long sur 3 cm de large entre M2 et M3 à gauche, non adhérent au tissu profond).

❖ **Examens complémentaires :**

Un **hémogramme** a été réalisé à J1 :

Printed at 14/10/2015 13:23:04 by ENVT

Sample No.: T15-4644 Attr.: Rack: Tube: 0 14/10/2015 13:23:03

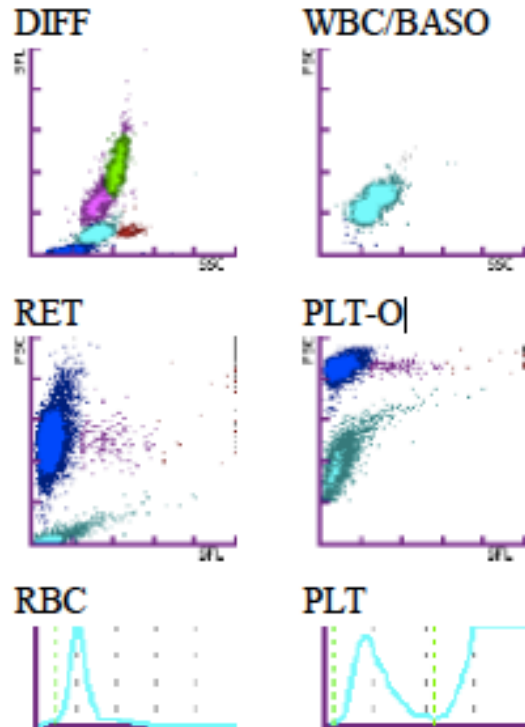
Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT

Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 14/10/2015 13:23:03

Category: Age: - AgeUnit: Sex:

Negative

WBC	20.74	[10 ³ /uL]		
RBC	6.49	[10 ⁶ /uL]		
HGB	12.0	[g/dL]		
HCT	32.3	[%]		
MCV	49.8	[fL]		
MCH	18.5	[pg]		
MCHC	37.2	[g/dL]		
PLT	752	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	32.5	[fL]		
RDW-CV	19.8	[%]		
PDW	11.4	[fL]		
MPV	9.6	[fL]		
P-LCR	23.6	[%]		
PCT	0.72	[%]		
NEUT	16.08	[10 ³ /uL]	77.8	[%]
LYMPH	1.83	[10 ³ /uL]	8.8	[%]
MONO	2.55	[10 ³ /uL]	12.3	[%]
EO	0.27	[10 ³ /uL]	1.3	[%]
BASO	0.01	[10 ³ /uL]	0.0	[%]
RET	0.96	[%]	0.0623	[10 ⁶ /uL]
IRF	13.4	[%]		
LFR	86.6	[%]		
MFR	3.7	[%]		
HFR	9.7	[%]		
PLT-O	739	[10 ³ /uL]		
D-WBC	25.47	[10 ³ /uL]		



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

RET-He 20.7 [pg]
RBC-He 20.2 [pg]

Figure : hémogramme de MAYA à J1

Δ WBC	1,23
Alarmes ou absence de résultats	Absence d'alarme
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : Absence de séparation nette entre les lymphocytes et les monocytes

- Formule et Anomalies du frottis :

	%
GNN	78
Bands cells	0
GNE	1
GNB	0
Lymphocytes	6
Monocytes	15

- Présence de quelques monocytes réactionnels.
- Présence d'amas leucocytaires en quantité importante.

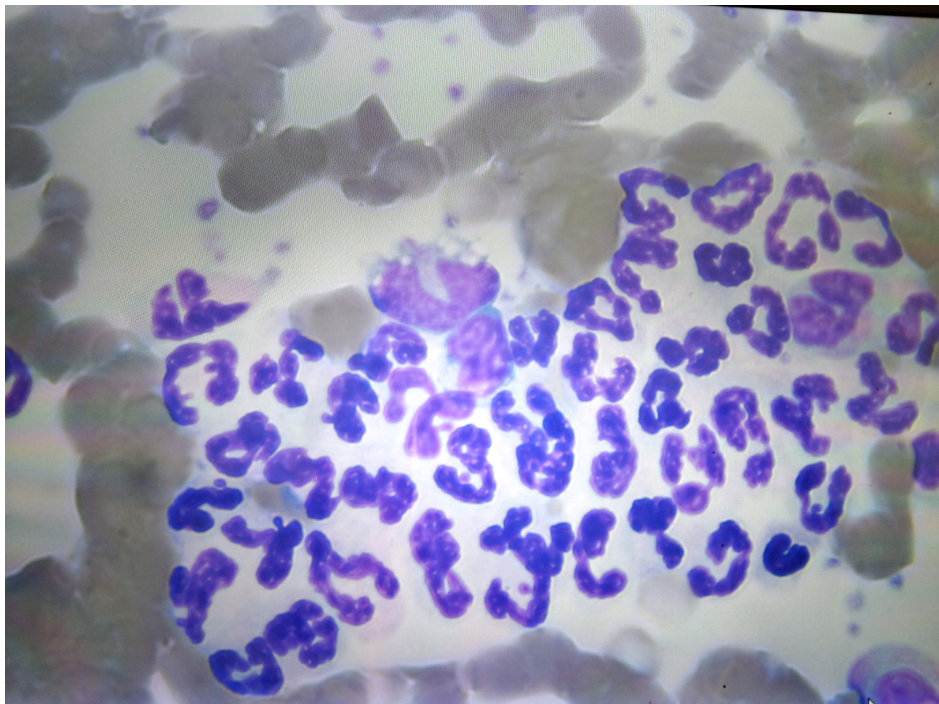


Figure : amas leucocytaires visibles sur le frottis de MAYA à l'objectif x40 après coloration au MGG

- Synthèse des anomalies hématologiques : Anémie microcytaire normochrome non régénérative, leucocytose neutrophilique et monocytose et thrombocytose.

L'échographie abdominale a montré une anomalie splénique focale compatible avec un hématome, un abcès, un granulome ou un kyste. Un processus tumoral (hémangiosarcome, lymphome, mastocytome) a été également inclus dans le diagnostic différentiel. Le bilan d'extension abdominal était négatif.

La **radiographie thoracique** a montré de l'arthrose au niveau des deux épaules, une masse mammaire minéralisée, une spondylose vertébrale. Le bilan d'extension thoracique était négatif.

Une **analyse d'urine** a été réalisée à J1 et a montré un pH alcalin anormal, une protéinurie ainsi que la présence de leucocytes dans les urines.

Tableau : Analyse d'urine de MAYA

Mode de prélèvement	Miction spontanée
Aspect des urines	Jaunes translucides
Densité (réfractomètre)	1,031
Résultats de la bandelette	pH = 8, protéine : ++, leucocytes : +
Culot	Rare cylindres, quelques cellules épithéliales et débris

❖ **Suivi :**

Maya a subi une splénectomie et l'analyse histologique a révélé un **sarcome splénique à cellules fusiformes**. Maya est revenue 2 mois plus tard, pour une baisse d'état général et une anorexie. Des masses hépatiques compatibles avec des métastases de sarcome splénique ont alors été identifiées. Etant donné la dissémination tumorale, et le mauvais pronostic vital, un traitement symptomatique palliatif à base d'anti-inflammatoires et d'antibiotiques a été mis en place.

Annexe 6 : Cas clinique n°6 GUESS

❖ **Motif de consultation :** Guess est un boxer mâle de 4 ans, monorchide, référé pour ictère flamboyant, abattement, anorexie et vomissements d'apparitions aiguës. Depuis une semaine, il présente un abattement de plus en plus marqué ainsi qu'une diarrhée jaunâtre. Depuis 3 jours, il présente également des vomissements jaunâtres 1 à 2 fois par jour. Son vétérinaire traitant a diagnostiqué une piroplasmose et a réalisé une injection de Carbésia (Imidocarbe) et une injection de Dexadreson (Dexaméthasone). Aucune amélioration clinique n'a été constatée par ses propriétaires. L'abattement ainsi que les vomissements devenant de plus en plus prononcés, une nouvelle consultation chez le vétérinaire a été réalisée et une suspicion d'anémie hémolytique à médiation immune a été faite. Guess a alors été référé à l'ENVT.

❖ **Examen clinique :**

Etat général	Bon état général, poids =31kg, Vigilance normale, T = 39,7°C
A (Airway)	RAS
B (Breathing)	FR = 20 mouvements par minute, bruits inspiratoires légèrement augmentés.
C (Circulation)	FC = 120 bpm, muqueuses ictériques, TRC =2s, Pouls fémoral bondissant et concordant, souffle systolique gauche et droit de grade 4/6.
D (Disability)	Abattement.
E (Exposure)	<ul style="list-style-type: none">• Palpation abdominale : souple et non douloureuse, vessie identifiable, absence d'anomalie.• Diarrhée : très liquide, jaunâtre, difficilement évaluable par le propriétaire.• Urines : orangées foncées.

❖ **Examens complémentaires :**

Un **hémogramme** a été réalisé avec l'automate aux urgences (Procyte, Idexx).

* Lignée rouge : RBC = NE, HGB = 6,3 g/dL, HCT = 20 %, taux de réticulocytes = 10%

* Lignée blanche : WBC = 30,23 x10³/μL

* Plaquettes : PLT = 80 000 /μL

- Formule et Anomalies du frottis :

	%
GNN	66
GNE	0
GNB	0
Lymphocytes	8
Monocytes	26
Erythroblastes	7/100GB
Réticulocytes (%)	29,2
Taux de réticulocyte corrigé	9,08

- Présence de quelques monocytes réactionnels et de quelques macrophages contenant de l'hemosidérine.
- Présence de nombreux agglutinats d'hématies associés à une anisocytose, une polychromatophilie importante et des corps de Howell-Jolly.
- Présence d'érythroblastes.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Anémie sévère fortement régénérative avec une leucocytose neutrophilique et une monocytose.

Un **test d'agglutination** a été réalisé à J1 et était fortement positif.

Un bilan **biochimique** a été réalisé ce même jour, et a montré une augmentation de l'urée, des activités enzymatiques PAL et ALAT de façon modérée, et une augmentation

très importante de la bilirubine totale. Une hypokaliémie et une légère hypochlorémie étaient également visibles.

Tableau : Biochimie de GUESS à J1

	Valeurs	Intervalle de référence
Urée (mmol/L)	9,36	1,6 - 10,9
Créatinine (μmol/L)	140,8*	44 - 133
Protéines totales (g/L)	80*	48 - 66
Albumine (g/L)	28	23 - 39
ALB / GLO	0,53	
Bilirubine totale (μmol/L)	>477*	1,7 - 12
PAL (U/L)	274*	20 - 155
ALAT (U/L)	236*	0,3 - 50
Sodium (mmol/L)	143	138 - 148
Potassium (mmol/L)	2,6*	3,2 - 5,0
Chlorures	109*	110 - 118

Une **l'analyse d'urine** a été réalisée et a montré une pigmenturie (orange/marron), une hématurie ainsi que la présence de bilirubine en quantité importante.

Tableau : Analyse d'urine de GUESS à J1

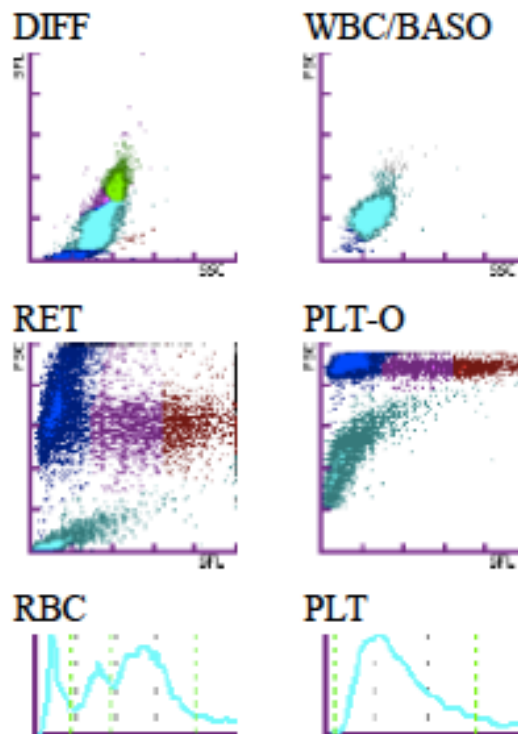
Mode de prélèvement	Miction spontanée
Aspect des urines	Orange
Densité (réfractomètre)	1,022
Résultats de la bandelette	pH = 6, sang : ++, protéines : +, bilirubine : +++++
Culot	Nombreux cristaux de bilirubine, quelques cellules épithéliales et cocci.

Un hémogramme de contrôle a été effectué à J3 :

Printed at 19/11/2015 08:53:01 by ENVT
 Sample No.: t15-5571 Attr.: Rack: Tube: 0 19/11/2015 08:52:59
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 19/11/2015 08:52:59
 Category: Age: - AgeUnit: Sex:

Positive Error
 Morph. Func.

WBC	95.54	[10 ³ /uL]		
RBC	0.64 *	[10 ⁶ /uL]		
HGB	4.9	[g/dL]		
HCT	7.6 *	[%]		
MCV	118.8 *	[fL]		
MCH	76.6 *	[pg]		
MCHC	64.5 *	[g/dL]		
PLT	281 *	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	---	[fL]		
RDW-CV	---	[%]		
PDW	22.1 *	[fL]		
MPV	13.4 *	[fL]		
P-LCR	48.0 *	[%]		
PCT	0.37 *	[%]		
NEUT	87.52	[10 ³ /uL]	91.6	[%]
LYMPH	1.38	[10 ³ /uL]	1.4	[%]
MONO	6.51	[10 ³ /uL]	6.8	[%]
EO	0.06	[10 ³ /uL]	0.1	[%]
BASO	0.07	[10 ³ /uL]	0.1	[%]
RET	---	[%]	---	[10 ⁶ /uL]
IRF	---	[%]		
LFR	---	[%]		
MFR	---	[%]		
HFR	---	[%]		
PLT-O	---	[10 ³ /uL]		
D-WBC	86.61	[10 ³ /uL]		



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)
 RBC Abn Distribution
 Dimorphic Population

PLT IP Message(s)
 PLT Abn Distribution

RET-He --- [pg]
 RBC-He --- [pg]

Figure : hémogramme de GUESS à J3

Δ WBC	0,9
Alarmes ou absence de résultats	Alarmes concernant les lignées érythroïdes et plaquettaires liées à des courbes en impédance (RPC, PLT) très anormales ne permettant pas de valider les résultats
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : mauvaise séparation des nuages de points

- Formule et Anomalies du frottis :

	%
GNN	82
GNE	1
GNB	0
Lymphocytes	6
Monocytes	11
Erythroblastes	12/100GB
Réticulocytes (%)	29,2
Taux de réticulocyte corrigé	9,08

- Présence de quelques neutrophiles hypersegmentés, de sidérophages, de quelques monocytes activés, et quelques band cells.
- Présence d'érythroblastes, d'une polychromatophilie importante, de corps de Howell-Jolly et quelques sphérocytes.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Anémie macrocytaire hypochrome régénérative, leucocytose neutrophilique, et monocytose.

Un **bilan biochimique** a également été réalisé à J3 montrant une persistance de l'hyperbilirubinémie et de l'hyperchlorémie.

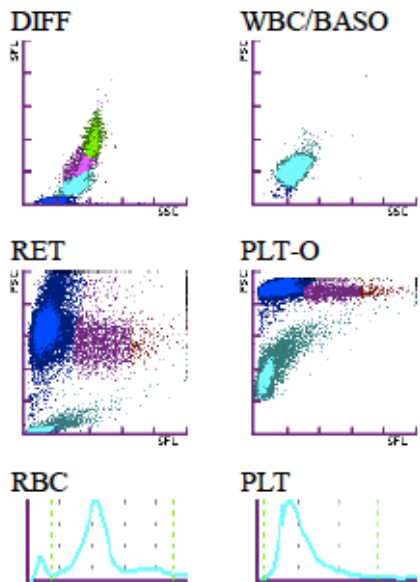
Tableau : Biochimie de GUESS à J3

	Valeur	Intervalle de Référence
Protéines totales (g/L)	72,9	48 - 66
Bilirubine totale (µmol/L)	218*	1,7 - 12
Sodium (mmol/L)	157*	138 - 148
Potassium (mmol/L)	3,6	3,2 - 5
Chlore (mmol/L)	123*	110 - 118
Bicarbonates (mmol/L)	20	16 - 25

Un **hémogramme** a été réalisé à J7 :

Printed at 23/11/2015 09:48:58 by ENVT
 Sample No.: T15-5571 Attr.: Rack: Tube: 0 23/11/2015 09:48:56
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 23/11/2015 09:48:56
 Category: Age: - AgeUnit: Sex:

Positive Morph.	Error Func.		
WBC	36.03	[10 ³ /uL]	
RBC	1.27 *	[10 ⁶ /uL]	
HGB	7.3	[g/dL]	
HCT	14.3 *	[%]	
MCV	112.6 *	[fL]	
MCH	57.5 *	[pg]	
MCHC	51.0 *	[g/dL]	
PLT	516	[10 ³ /uL]	
RDW-SD	64.0 *	[fL]	
RDW-CV	27.2 *	[%]	
PDW	11.3	[fL]	
MPV	10.3	[fL]	
P-LCR	26.7	[%]	
PCT	0.53	[%]	
NEUT	28.74	[10 ³ /uL]	79.7 [%]
LYMPH	3.55	[10 ³ /uL]	9.9 [%]
MONO	3.74	[10 ³ /uL]	10.4 [%]
EO	0.00	[10 ³ /uL]	0.0 [%]
BASO	0.00	[10 ³ /uL]	0.0 [%]
RET	---	[%]	--- [10 ⁶ /uL]
IRF	---	[%]	
LFR	---	[%]	
MFR	---	[%]	
HFR	---	[%]	
PLT-O	---	[10 ³ /uL]	
D-WBC	27.58	[10 ³ /uL]	



WBC IP Message(s) RBC/RET IP Message(s) PLT IP Message(s)
 RBC Abn Distribution

RET-He --- [pg]
 RBC-He --- [pg]

Figure : hémogramme de GUESS à J7

Δ WBC	0,76
Alarmes ou absence de résultats	Alarmes concernant les lignées érythroïdes ne permettant pas de valider les résultats Absence de formule leucocytaire
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : mauvaise séparation des nuages de points

- Formule et Anomalies du frottis :

La formule n'a pas été évaluée lors de la lecture du frottis mais différentes anomalies ont été mises en évidence :

- Présence de quelques neutrophiles hypersegmentés et de monocytes activés.
- Présence d'agglutinats d'hématies.
- Présence d'érythroblastes, d'une polychromatophilie importante, de corps de Howell-Jolly et quelques sphérocytes.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Anémie macrocytaire hypochrome régénérative, leucocytose neutrophilique, et monocytose.

Un test d'agglutination a été réalisé à J7 et était fortement positif.

Concernant le **bilan biochimique** réalisé à J7, une hyperprotidémie, une hypercréatinémie, une augmentation des activités enzymatiques de cholestase et de cytolysse hépatique ainsi que la persistance de l'hyperbilirubinémie ont été observées.

Tableau : Biochimie de T15- 5571 à J7

	Valeur	Intervalle de Référence
Protéines totales (g/L)	76,2*	48 - 66
Albumine (g/L)	30,7	23 - 39
Alb / Glo	0,67	
Créatinine	262,2*	44 - 133
PAL (U/L)	1352*	20 - 155
ALAT (U/L)	529*	3 - 50

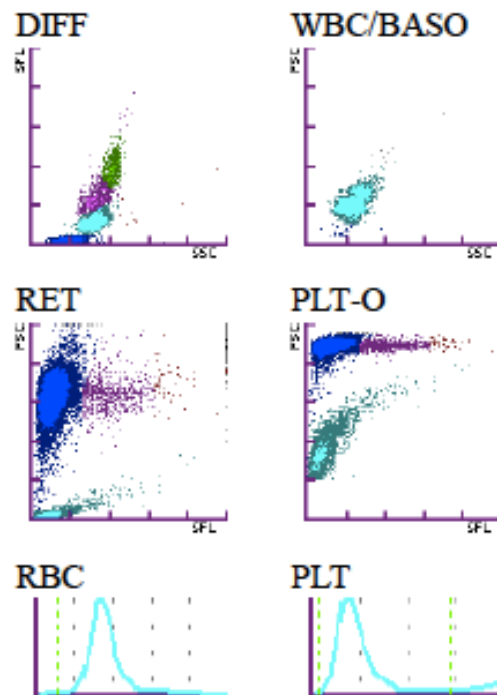
ASAT (U/L)	77*	1 - 37
GGT (U/L)	91*	5 - 25
Bilirubine totale (µmol/L)	73,2*	1,7 - 12

Un autre **contrôle des variables sanguines** a été réalisé 3 semaines plus tard :

Printed at 07/12/2015 15:27:18 by ENV
 Sample No.: T15-5571 Attr.: Rack: Tube: 0 07/12/2015 15:27:15
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENV
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 07/12/2015 15:27:15
 Category: Age: - AgeUnit: Sex:

Negative

WBC	20.89	[10 ³ /uL]		
RBC	4.02	[10 ⁶ /uL]		
HGB	10.5	[g/dL]		
HCT	33.4	[%]		
MCV	83.1	[fL]		
MCH	26.1	[pg]		
MCHC	31.4	[g/dL]		
PLT	408	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	48.6	[fL]		
RDW-CV	16.8	[%]		
PDW	8.8	[fL]		
MPV	9.1	[fL]		
P-LCR	17.0	[%]		
PCT	0.37	[%]		
NEUT	18.54	[10 ³ /uL]	88.8	[%]
LYMPH	1.34	[10 ³ /uL]	6.4	[%]
MONO	1.00	[10 ³ /uL]	4.8	[%]
EO	0.01	[10 ³ /uL]	0.0	[%]
BASO	0.00	[10 ³ /uL]	0.0	[%]
RET	3.11	[%]	0.1250	[10 ⁶ /uL]
IRF	8.0	[%]		
LFR	92.0	[%]		
MFR	7.1	[%]		
HFR	0.9	[%]		
PLT-O	436	[10 ³ /uL]		
D-WBC	19.88	[10 ³ /uL]		



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

RET-He 29.4 [pg]
 RBC-He 28.3 [pg]

Figure : hémogramme de Guess à J30

Δ WBC	0,95
Alarmes ou absence de résultats	Absence d'alarme
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : meilleure séparation des nuages de points mais celle-ci reste anormale

- Formule et Anomalies du frottis :

	%
GNN	91
GNE	0
GNB	1
Lymphocytes	2
Monocytes	6
Réticulocytes (%)	3,11
Taux de réticulocyte corrigé	2,21

- Présence de quelques lymphocytes réactionnels, monocytes activées et quelques basophiles.
- Présence d'une anisocytose de quelques sphérocytes, de corps de Howell-Jolly.

- **Résultats :** Anémie macrocytaire hypochrome régénérative associée à une neutrophilie, une lymphopénie et une basophilie.

Un test d'agglutination a été réalisé à J30 et était négatif.

Tableau : Biochimie de GUESS à J30

	Valeur	Intervalle de Référence
Protéines totales (g/L)	60,1	48 - 66
Albumine (g/L)	26,3	23 - 39
Alb / Glo	0,77	
Créatinine (mol/L)	99,6	44 - 133
PAL (U/L)	559*	20 - 155
ALAT (U/L)	504*	3 -50
ASAT (U/L)	68*	1 - 37
CK (U/L)	1356*	25 - 467
GGT (U/L)	67*	5 - 25
Bilirubine totale (µmol/L)	12,2*	1,7 - 12

❖ **Hypothèses diagnostiques :**

Après les examens complémentaires, un diagnostic d'anémie hémolytique à médiation immune idiopathique a été établi.

❖ **Suivi:**

Une nette amélioration de son état clinique et des variables biologiques ont montré une bonne réponse au traitement. La chienne a présenté une bonne amélioration des paramètres biologiques.

Annexe 7 : Cas clinique n°7 LEWIS

❖ **Motif de consultation** : Lewis est un chien mâle croisé Jack Russel Terrier entier (cryptorchide) de 2 ans, présenté aux urgences pour intoxication au paracétamol. 2 heures avant, Lewis a mangé une boîte entière de DAFALGAN (paracétamol) codéiné 500mg, soit approximativement 11 gélules de 500mg. Il a ensuite vomi 3 fois, un liquide jaune et coloré de rose (couleur des comprimés avalés). D'après la propriétaire, 1 h après, Lewis a commencé à être ataxique. Il a cependant émis des selles et des urines normales.

❖ **Examen clinique :**

Etat général	Bon état général, SC = 4/9, poids = 4 kg, T = 37,4 °C, déshydratation évaluée à 5 %.
A (Airway)	RAS
B (Breathing)	FR = 24 mpm, absence d'anomalie à l'auscultation.
C (Circulation)	FC = 200bpm, muqueuses très pâles, TRC <2s, absence d'anomalie à l'auscultation, pouls fémoral net.
D (Disability)	Abattement.
E (Exposure)	Palpation abdominale : souple et non douloureuse.

❖ **Examens complémentaires :**

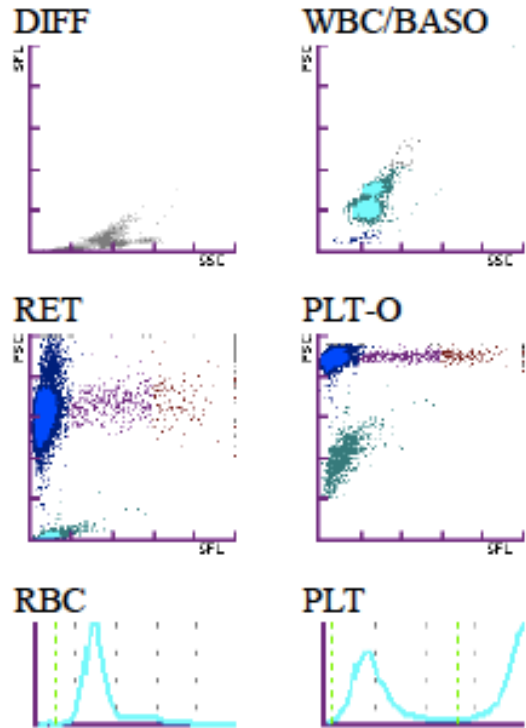
Un **hémogramme** a été réalisé à J1:

Printed at 16/03/2016 15:07:52 by ENVT
 Sample No.: T16-233 Attr.: Rack:
 Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT
 Species: Dog Ana.Profile: auto Dog
 Category: Age: -

Tube: 0 16/03/2016 15:07:51
 Ana.Date: 16/03/2016 15:07:51
 AgeUnit: Sex:

Positive Morph.	Error Func.
WBC	7.92 * [10 ³ /uL]
RBC	7.81 [10 ⁶ /uL]
HGB	19.0 [g/dL]
HCT	52.6 [%]
MCV	67.3 [fL]
MCH	24.3 [pg]
MCHC	36.1 [g/dL]
PLT	244 [10 ³ /uL]
RDW-SD	36.2 [fL]
RDW-CV	17.7 [%]
PDW	10.2 [fL]
MPV	9.3 [fL]
P-LCR	19.4 [%]
PCT	0.23 [%]
NEUT	--- [10 ³ /uL]
LYMPH	--- [10 ³ /uL]
MONO	--- [10 ³ /uL]
EO	--- [10 ³ /uL]
BASO	0.02 * [10 ³ /uL]
RET	--- [%]
IRF	--- [%]
LFR	--- [%]
MFR	--- [%]
HFR	--- [%]
PLT-O	--- [10 ³ /uL]
D-WBC	0.93 [10 ³ /uL]

--- [%]
 --- [%]
 --- [%]
 --- [%]
 0.3 * [%]
 --- [10⁶/uL]



WBC IP Message(s)
 WBC Abn Scattergram

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

RET-He --- [pg]
 RBC-He --- [pg]

Figure: Hémogramme de LEWIS à J1

Δ WBC	0,12
Alarmes ou absence de résultats	Alarme sur la canal BASO (*) mentionnant un problème de comptage des leucocytes Alarme sur le canal DIFF mentionnant des nuages de points anormaux Absence de formule leucocytaire
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : mauvaise séparation des nuages de points (zone grise) et positionnement anormalement bas d'un seul nuage de points à l'emplacement des neutrophiles

- Formule et Anomalies du frottis :

	%
GNN	60
GNE	2
GNB	0
Lymphocytes	34
Monocytes	4
Erythroblastes	1/100GB

- Sang très foncé, limite noir.
- Présence de quelques érythroblastes, de rouleaux d'hématies associées à une anisocytose et une polychromatophilie légères.

- Synthèse des anomalies hématologiques : Rouleaux d'hématies en grande quantité.

Un bilan **biochimique** a été réalisé dans lequel une hyperbiliruniémie, une hypokaliémie et une augmentation modérée de l'activité ASAT ont été identifiées.

Tableau : Biochimie de LEWIS à J1

	Valeur	Intervalle de Référence
Protéines totales (g/L)	61,8	48 - 66
Albumine (g/L)	34,8	23 - 39
Alb / Glo	1,28	
Créatinine (µmol/L)	44,1	44 - 133
PAL (U/L)	76	20 - 155
ALAT (U/L)	263*	3 - 50
ASAT (U/L)	91*	1 - 37
Bilirubine totale (µmol/L)	70*	1,7 - 12
Sodium (mmol/L)	146	138 - 148
Potassium (mmol/L)	2,8*	3,2 - 5
Chlorures (mmol/L)	113	110 - 118

Des **bilans biochimiques** ont été réalisés régulièrement et ont mis en évidence une amélioration des variables hépatiques en parallèle avec l'amélioration de l'état de LEWIS.

Tableau : Résultats des différentes biochimies réalisées pendant l'hospitalisation

	Valeurs du 17/03	Valeurs du 18/03	Valeurs du 23/03	Intervalle de Référence
Protéines totales (g/L)	47,5	NE	58,5	48 - 66
Albumine (g/L)	25,4	26,7	30,2	23 - 39
Alb / Glo	1,15	NE	1,06	
Créatinine (µmol/L)	NE	NE	64,5	44 - 133
PAL (U/L)	298*	262*	129	20 - 155
ALAT (U/L)	182*	180*	120*	3 - 50
ASAT (U/L)	39*	38*	NE	1 - 37
GGT (U/L)	< 5	NE	NE	
Bilirubine totale (µmol/L)	3,7	2,8	NE	1,7 - 12
Cholestérol (mmol/L)	3,6	NE	NE	3,3 - 9,3

Sodium (mmol/L)	144	143	NE	138 - 148
Potassium (mmol/L)	3,8	3,8	NE	3,2 - 5
Chlorures (mmol/L)	121	117	NE	110 -118

❖ **Suivi:**

Au dernier rendez-vous de contrôle, LEWIS a présenté un bon état général et une rémission complète des symptômes.

Annexe 8 : Cas clinique n°8 IRON

❖ **Motif de consultation :** Iron est un bouledogue français mâle de 1 an et 2 mois présenté en consultation de chirurgie pour une respiration bruyante et polypnée permanente. Son propriétaire a rapporté une respiration très bruyante avec présence d'un jetage seromuqueux et une polypnée quasi permanente.

Un épisode de vomissements/régurgitations a été signalé ainsi qu'une défécation peu fréquente (une fois tous les 2 à 3 jours).

❖ **Examen clinique :**

Etat général	Animal en bon état général, SC = 6/9, poids = 14 kg, T = 38,1 °C.
A (Airway)	Sténose sévère des narines. Jetage séro-muqueux.
B (Breathing)	Polypnée, pas d'anomalie à l'auscultation pulmonaire. Légère discordance respiratoire, râle trachéal.
C (Circulation)	Muqueuses roses et hydratées, TRC < 2s, examen cardiaque difficile à réaliser compte tenu des bruits respiratoires.
D (Disability)	RAS
E (Exposure)	Autres anomalies : Intertrigo des plis de la face.

❖ **Examens complémentaires :**

Un bilan pré-anesthésique en vue d'une chirurgie concernant la résection du voile du palais et une correction de la sténose des narines, a été réalisé.

Un **hémogramme** a été réalisé à J1 :

Printed at 24/11/2014 11:40:18 by ENVT

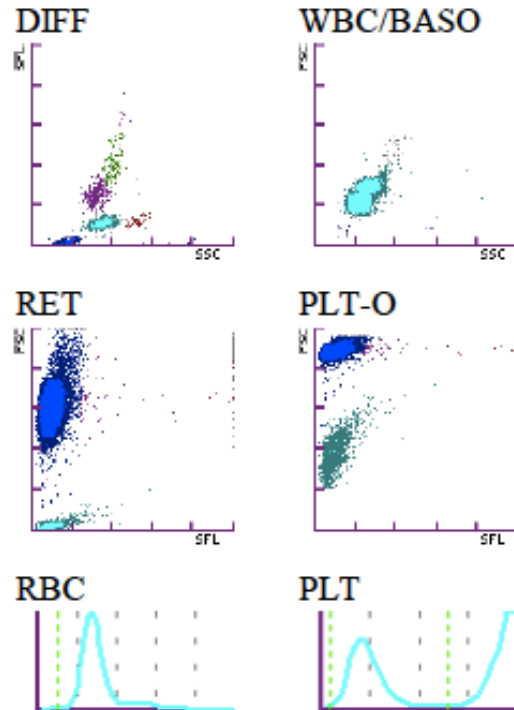
Sample No.: t14-5880 Attr.: Rack: Tube: 0 24/11/2014 11:39:55

Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: ENVT

Species: Dog Ana.Profile: auto Dog Ana.Date: 24/11/2014 11:39:55

Category: Age: - AgeUnit: Sex:

	Value	Unit	Error	Func.
WBC	10.75 *	[10 ³ /uL]		
RBC	7.90	[10 ⁶ /uL]		
HGB	18.9	[g/dL]		
HCT	50.8	[%]		
MCV	64.3	[fL]		
MCH	23.9	[pg]		
MCHC	37.2	[g/dL]		
PLT	366	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	38.8	[fL]		
RDW-CV	19.0	[%]		
PDW	9.9	[fL]		
MPV	9.0	[fL]		
P-LCR	17.4	[%]		
PCT	0.33	[%]		
NEUT	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
LYMPH	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
MONO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
EO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
BASO	0.01 *	[10 ³ /uL]	0.1 *	[%]
RET	0.20	[%]	0.0158	[10 ⁶ /uL]
IRF	18.2	[%]		
LFR	81.8	[%]		
MFR	5.5	[%]		
HFR	12.7	[%]		
PLT-O	348	[10 ³ /uL]		
D-WBC	2.01	[10 ³ /uL]		



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

RET-He 28.7 [pg]
RBC-He 26.4 [pg]

Figure : Hémogramme de IRON a J1

Δ WBC	0,19
Alarmes ou absence de résultats	Alarme sur la canal BASO (*) mentionnant un problème de comptage des leucocytes Alarme sur la canal DIFF (---), absence de formule leucocytaire
Anomalies visuelles des nuages de points	Absence d'anomalie

- Formule et Anomalies du frottis :

	%
GNN	71
GNE	2
GNB	0
Lymphocytes	24
Monocytes	3

- Synthèse des anomalies hématologiques : Absence d'anomalie.

Un **bilan biochimique** a également été réalisé, montrant une légère polyglobulie.

Tableau : Biochimie de IRON à J1

	Valeur	Intervalle de Référence
Protéines totales (g/L)	68,8*	48 - 66
Albumine (g/L)	38,7	23 - 39
Alb / Glo	1,28	
Créatinine (μmol/L)	115,7	44 - 133

❖ **Suivi:**

Une staphylectomie, ainsi qu'une résection des ventricules laryngés et une plastie des narines ont été réalisées sans complications.

Annexe 9 : Cas clinique n°9 BOY

❖ **Motif de consultation** : Boy est un épagneul français mâle de 8,5 ans, présenté en consultation de chirurgie pour un abatement marqué, une anorexie et un oedème au niveau du poitrail. Boy a été opéré le 12 novembre 2014 pour une panarthrodèse du carpe gauche avec une greffe d'os spongieux (prélevé au niveau de l'humérus) suite à une subluxation du carpe gauche. Il est sorti des hôpitaux de chirurgie le lundi 17 novembre 2014 avec une résine entourée d'un pansement. Depuis sa sortie, il a présenté une anorexie, il buvait peu et était, selon les propriétaires, très abattu. Il ne posait plus la patte opérée et les propriétaires ont rapporté une odeur nauséabonde provenant du pansement.

❖ **Examen clinique :**

Etat général	Animal en bon état général, SC = 4/9, T= 40,7°C puis 41,2°C, déshydratation à 5%
A (Airway)	RAS
B (Breathing)	FR= 40mpm, absence d'anomalie à l'auscultation.
C (Circulation)	FC= 144bpm, muqueuses rosées pâles collantes, TRC > 2 sec, pouls fémoral net et concordant, absence d'anomalie à l'auscultation.
D (Disability)	Animal abattu, hypovigilant.
E (Exposure)	NL poplité droit de taille très augmentée, oedème conséquent au niveau du poitrail, très fluctuant.

❖ **Examens complémentaires :**

Un **hémogramme** a été réalisé à J1 :

Printed at 20/11/2014 15:26:04 by ENVT

Sample No.: t06-2389

Attr.:

Rack:

Tube: 0 20/11/2014 15:25:18

Inst.ID: XT-2000iV-1

Operator: ENVT

Species: Dog

Ana.Profile: auto Dog

Ana.Date: 20/11/2014 15:25:18

Category:

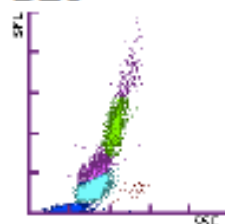
Age: -

AgeUnit:

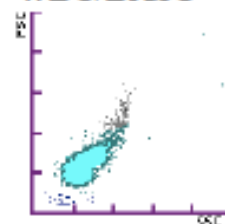
Sex:

	Value	Unit	Error	Func.
WBC	28.52 *	[10 ³ /uL]		
RBC	5.98	[10 ⁶ /uL]		
HGB	14.6	[g/dL]		
HCT	36.6	[%]		
MCV	61.2	[fL]		
MCH	24.4	[pg]		
MCHC	39.9	[g/dL]		
PLT	380	[10 ³ /uL]		
RDW-SD	30.5	[fL]		
RDW-CV	14.1	[%]		
PDW	11.3	[fL]		
MPV	9.9	[fL]		
P-LCR	24.3	[%]		
PCT	0.37	[%]		
NEUT	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
LYMPH	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
MONO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
EO	---	[10 ³ /uL]	---	[%]
BASO	0.12 *	[10 ³ /uL]	0.4 *	[%]
RET	0.66	[%]	0.0395	[10 ⁶ /uL]
IRF	15.0	[%]		
LFR	85.0	[%]		
MFR	9.2	[%]		
HFR	5.8	[%]		
PLT-O	400	[10 ³ /uL]		
D-WBC	16.61	[10 ³ /uL]		

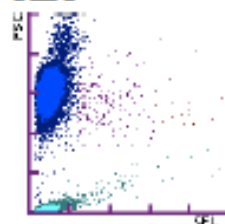
DIFF



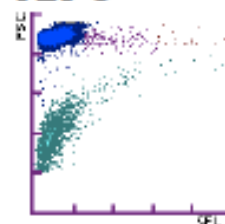
WBC/BASO



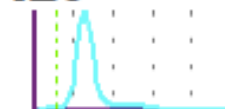
RET



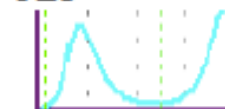
PLT-O



RBC



PLT



WBC IP Message(s)

RBC/RET IP Message(s)

PLT IP Message(s)

RET-He 23.3 [pg]

RBC-He 26.9 [pg]

Figure: Hémogramme de BOY

Δ WBC	0,58
Alarmes ou absence de résultats	Alarme sur la canal BASO (*) mentionnant un problème de comptage des leucocytes Absence de formule leucocytaire
Anomalies visuelles des nuages de points	- DIFF : continuité visible entre tous les groupes de leucocytes et démarcation arbitraire entre les neutrophiles et les lymphocytes (ligne droite) Présence de points violets au-dessus de la plage des monocytes

- Formule et Anomalies du frottis :

	%
GNN	62
Band cells	17
GNE	0
GNB	0
Lymphocytes	15
Monocytes	6
Erythroblastes	6/100GB

- Présence de lymphocytes et de monocytes réactionnels ainsi que des granulocytes neutrophiles toxiques et des band cells.
- Présence de cristaux d'hémoglobine en quantité modérée, d'une anisocytose, de quelques échinoacanthocytes et érythroblastes.
- Présence d'agrégats plaquettaires en quantité modérée et des macroplaquettes.
- Présence de quelques squames et de globules gras.

- **Synthèse des anomalies hématologiques :** Leucocytose neutrophilique avec déviation de la courbe de Arneth à gauche.

Une **biochimie** a été réalisée et n'a montré aucune anomalie d'intérêt diagnostique.

Une **analyse d'urine** a été réalisée et a montré une densité urinaire faible, une protéinurie légère ainsi que la présence d'hémoglobines et de bilirubine dans les urines :

Tableau : Analyse d'urine de BOY

Mode de prélèvement	Cystocentèse
Aspect des urines	Jaunes translucides
Densité (réfractomètre)	1,016
Résultats de la bandelette	pH = 7, sang : +++, protéines : +, bilirubine : ++
Culot	RAS

❖ **Suivi:**

Une bonne résolution de l'abcès et une bonne évolution du site de prélèvement de l'os spongieux sur l'humérus ont été observées lors de la visite de contrôle.

Annexe 10 : Code du programme permettant d'extraire les données utiles à l'étude

Les différentes lignes de codes sont annotées avec des // suivis des explications de codage :

```
#!/usr/bin/python3
import os, sys, subprocess

def isfloat(value):
    try:
        float(value)
        return True
    except:
        return False

// Cette fonction permet de vérifier si une suite de caractères est un nombre ou pas

if len(sys.argv) == 1:
    print("Missing input file")
    sys.exit(1)

// Cette fonction vérifie l'existence du fichier
# file = ../../classeur5.pdf

file = sys.argv[1]
if not os.path.isfile(file):
    print("Wrong input file:", file)
    sys.exit(1)

tmp_txt = file + ".tmptxt"
# tmp_txt = ../../classeur5.pdf.tmptxt
if os.path.isfile(tmp_txt):
    os.remove(tmp_txt)

print("Converting pdf to raw text...")
```



```
subprocess.call("pdftotext " + file + " " + tmp_txt, shell=True)
```

```
//pdftotxt permet de transformer un format PDF en fichier txt
```

```
if not os.path.isfile(tmp_txt):
```

```
    print("Tmp file not found:", tmp_txt)
```

```
    sys.exit(1)
```

```
// Nous commençons à travailler sur le fichier TXT.
```

```
// Une boucle commence à « printed at » c'est à dire au début de chaque page des PDF
```

```
start = "Printed at "
```

```
end = " by ENVT"
```

```
output = []
```

```
count = 0
```

```
with open(tmp_txt) as f:
```

```
    cur_result = dict()
```

```
    lines = f.readlines()
```

```
    # lines = [" Printed at...\n", "Sample No.:...\n", "T14..."]
```

```
// Nous rentrons dans « lines » toutes les données à la suite
```

```
# cur_result = {"date" : "bla bla data", "page" : 2, ....}
```

```
for i in range(len(lines)):
```

```
    line = lines[i]
```

```
    # line = "Printed at ..."
```

```
    if "Printed at" in line: // si la ligne commence par « printed at »
```

```
        cur_result = dict()
```

```
        l = line[line.find(start)+len(start):line.rfind(end)]
```

cur_result["date"] = l // La clé « date » dans nos résultats est créée et nous lui donnons la valeur entre « printed at » et « end », cette valeur est nommée « l » et correspond à la date pour la page « i ».

```
        count += 1 // Le numéro de page est incrémenté
```

```
        cur_result["page"] = count // La clé « numéro de page » est créée
```

cur_result["WBC Abn Scattergram"] = False // clé « WBC Abn Scattergram » est créée et nous considérons par défaut qu'il n'y a pas de problème, nous lui associons la valeur « False »

```
// Pour récupérer le numéro de dossier de l'animal, il y a 2 cas de figure : soit le numéro est juste après « sample No » dans le fichier TXT soit il est à la ligne en dessous
```

```
// \n signifie un espace, c'est à dire le retour à la ligne
```

```
if 'Sample No.\n' == line: // Si il y a un espace alors nous prenons les caractères de la ligne en dessous (i +1) et nous enlevons le retour à la ligne
```

```
    cur_result["Sample No."] = lines[i+1].replace("\n","")
```

```
elif 'Sample No.: ' in line: // si il n'y pas a d'espace alors nous prenons les caractères qui suivent « Sample No » et nous enlevons le retour à la ligne
```

```
    cur_result["Sample No."] = line[len("Sample No.:"):].replace("\n","")
```

```
//La même chose pour WBC Abn Scattergram, est réalisée, si ce caractère est présent alors nous associons la valeur « True » sinon nous laissons par défaut la valeur « False »
```

```
if "WBC Abn Scattergram\n" == line:
```

```
    cur_result["WBC Abn Scattergram"] = True
```

```
// La valeur de WBC est récupérée, nous nous plaçons à la ligne i+1, nous enlevons le retour à la ligne et l'unité puis nous vérifions que ce soit bien un nombre avec la fonction « isfloat » (si ce n'est pas un nombre, nous écrivons « FAILED » et cela sera repris à la main), nous utilisons ensuite la fonction « float » qui permet de mettre ces caractères en chiffres
```

```
if 'WBC\n' == line:
```

```
    wbc = lines[i+1].replace("\n","").replace("[10^3/uL]","")
```

```
    if isfloat(wbc):
```

```
        cur_result["WBC"] = float(wbc)
```

```
    else:
```

```
        cur_result["WBC"] = "FAILED"
```

```
//La même chose est réalisée pour D-WBC
```

```
if "D-WBC" in line:
```

```
    dwbc = line[5:].replace("\n","").replace("[10^3/uL]","")
```

```
    if isfloat(dwbc):
```

```

        cur_result["D-WBC"] = float(dwbc)
    else:
        cur_result["D-WBC"] = "FAILED"

    keys = ["date", "WBC", "D-WBC", "Sample No.", "WBC Abn Scattergram"]

    // Dès que le message « PLT IP Message » apparait cela signifie que nous sommes à la fin de la
    // page et la boucle recommence. Nos résultats seront alors stockés dans « output »

    if "PLT IP Message" in line and all(k in cur_result for k in keys):
        output += [dict(cur_result)]
        cur_result = dict()
print(len(output), "results found in file")

for res in output:
    print(res)

// La fonction suivante permet de prendre l'ensemble de nos résultats et de les mettre en format
// CSV pouvant ensuite être utilisés sous EXCEL

print("Export to", file[:-4] + ".csv")
import csv
keys = output[0].keys()
with open(file[:-4] + ".csv", 'w') as output_file:
    dict_writer = csv.DictWriter(output_file, keys)
    dict_writer.writeheader()
    dict_writer.writerows(output)

```

Toulouse, 2019

NOM : REBEROL

PRENOM : Laurie

TITRE : Étude des facteurs influençant la différence de numération des leucocytes entre le canal BASO-WBC et le canal DIFF-WBC du sysmex XT-2000iV sur le sang chez le chien

RESUME :

L'hématologie, et plus particulièrement l'étude des leucocytes, est essentielle de nos jours car elle permet d'affiner les diagnostics cliniques et améliorer la prise en charge de l'animal. La fiabilité des automates et de leurs méthodes de mesure est un enjeu majeur car des erreurs de numération peuvent induire des erreurs importantes de diagnostic. Des écarts entre la numération des leucocytes via le canal BASO et la numération différentielle par le canal DIFF peuvent être dus à des éléments sanguins anormaux ou à des problèmes d'automates. Ces écarts ont été étudiés sur 2248 hémogrammes de chien et 13 hémogrammes avec un Δ WBC supérieur à 1,2 ou inférieur à 0,8 ont été retenus pour une étude approfondie. L'étude des dossiers médicaux, en parallèle des hémogrammes, a permis de mettre en évidence différents éléments interférant avec la numération des leucocytes : cryoglobulines, érythroblastes, méthémoglobines.

MOTS – CLES :

HEMATOLOGIE, LEUCOCYTES, DIFFERENTIEL, Δ WBC, CRYOGLOBULINES, ERYTHROBLASTES, METHEMOGLOBINES.

TITTLE : Study of factors influencing the difference in leukocyte count between the BASO-WBC channel and the DIFF-WBC channel of sysmex XT-2000iV in blood of dogs

ABSTRACT :

Hematology, and more particularly the study of leucocytes, make it possible to improve the clinical diagnostics and the animal care, which are essential nowadays. The reliability of the analyzer and their method of measurement is a major concern, as numerical errors can induce important diagnosis errors. Differences between leukocyte counts via the BASO channel and DIFF channel may be caused by abnormal blood elements or by issues in the analysis device. These discrepancies were studied on 2248 dog blood counts. 15 records, with Δ WBC greater than 1.2 or less than 0.8, have been selected for further study. In parallel to the blood counts, study of the medical records allows to highlight various elements interfering with a leukocyte count : cryoglobulins, erythroblasts, methemoglobins.

KEY-WORDS :

HEMATOLOGY, LEUKOCYTES, DIFFERENTIAL, Δ WBC, CRYOGLOBULINS, ERYTHROBLASTS, METHEMOGLOBINS.