

# Etude comparative de la mesure de l'épaisseur du buffy-coat avec les valeurs chiffrées de l'hémogramme chez le chien

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2009  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Claire-Lise, Françoise, Marie ETIENNE**  
Née le 01 Août 1984 à PRIVAS (Ardèche)

---

**Directeur de thèse : M. le Professeur Nathalie BOURGES-ABELLA**

---

## JURY

PRESIDENT :

**M. Elisabeth ARLET-SUAU**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

**M. Nathalie BOURGES-ABELLA**  
**M. Catherine TRUMEL**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



Liste des professeurs ENVT (sur 2 pages)



## **REMERCIEMENTS**

Aux membres du jury de thèse,

**A Madame le Professeur Elisabeth ARLET-SUAU**

*Professeur des Universités  
Praticien hospitalier  
Médecine interne*

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.  
Hommages respectueux.

**A Madame BOURGES-ABELLA Nathalie,**

*Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Histologie, Anatomie pathologique*

Qui m'a guidée tout au long de ce travail.  
Pour son soutien sans faille.  
Sincère reconnaissance.

**A Mademoiselle TRUMEL Cathy,**

*Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Pathologie médicale des équidés et des carnivores domestiques*

Qui m'a ouvert les portes du laboratoire.  
Pour son soutien et ses précieux conseils.  
Sincères remerciements.



A tous ceux que j'aime,

A mes parents, Marie-Ange et Jean-François,  
Pour votre amour et votre soutien de parents. Pour m'avoir fait découvrir le métier dès ma naissance.

A ma sœur, Anne-Laure,  
Pour l'amour que tu me donnes sans faille malgré les trop nombreux kilomètres qui nous séparent.

A ma petite Ska,  
Que tu resteras.

A mon Amour, Sébastien,  
Pour le Bonheur que tu m'apportes au quotidien depuis des années et pour la vie...

A mes grands-parents, Hélène et Roger,  
Pour votre amour, votre soutien et toutes mes vacances d'été inoubliables à vos côtés.

A ma marraine, Claire et à mon oncle, Jean-Luc,  
Pour votre amour et votre soutien. Vous avez su merveilleusement remplir votre rôle de « seconds » parents. Merci.

A mes cousins, Hugo et Robin,  
Pour ce que vous êtes : deux frères pour moi.

A ma famille paternelle, Roseline, Daniel, Pauline, Albéric, Bernadette, Vincent, Mattieu, Sylvain et la famille Cardinal,  
Pour votre amour et votre soutien.

A ma belle famille, Brigitte, Jean-Pierre, Loïc, Josette, Emile, Sylvie, Olga, Christophe, Virginie, Pierre, Jean-Christophe, Florian,  
Pour votre accueil chaleureux dans cette grande famille qui devient ma « deuxième » famille. Merci.

A Marie et Antoine Pedro,  
Pour ma petite enfance à vos côtés.



A Marie-Aude, Barnabé, Antoine, Florent, Blandine, Joseph, Geoffrey, Marine,  
Pour nos années lycée et nos retrouvailles annuelles. Pour nos souvenirs.

A Marion D., Bubble, Cassandre, Iko, Sniak, Marion F., Sibylle, Julien « Cobiz », Chon,  
Amandine, Canari, Nathou, Julien, Bibi, Guigui, Deb, Rominou, Pauline, Rhymbow, Marion  
B., Fanny, Shik, Anne-Claire, Sylvain, Vincent,  
Pour nos années d'école voire de prépa. A tous ces bons moments passés et à venir ensemble.

A Cédric, Elodie, Dumé, Charline, JY, Marie, Julien, Fifi, Mathieu, Corsu, Pucheux, Arnaud,  
Pour avoir été des docs exemplaires et maintenant bien plus.

A Véronique, Christian, Annie, Emilie, Jennifer,  
Pour tout le soutien et toute la confiance que vous m'accordez. Merci.

A Nanou, Carine, Fanny, Pierre, Claude, Florence, Claire et Mr Braun,  
Pour m'avoir intégrée dans votre équipe chaleureuse.

A tous les chiens qui ont « accepté » de nous laisser quelques millilitres de sang.

A tous ceux que j'oublie surement.



*« De tout ce qui est écrit, je ne lis que ce que quelqu'un écrit avec son sang. Ecris avec ton sang : et tu verras que le sang est esprit. »*

NIETZSCHE F.W.

*« Une amitié pour être bien trempée doit l'être dans le sang des autres. »*

AUDIARD M.

*« Le secret de ma vitalité ? Je n'ai dans le sang que des globules rouges : l'alcool a tué depuis belle lurette tous mes globules blancs. »*

CHURCHILL W.L.S.



## TABLE DES MATIERES

<b>Table des abréviations</b> -----	16
<b>Table des illustrations</b> -----	17
<b>Introduction</b> -----	20

### **PREMIERE PARTIE : PRESENTATION ET INTERET DE L'ETUDE**

<b>I. Microhématocrite et buffy coat</b> -----	21
I.1. Historique-----	21
I.2. Définitions-----	22
<b>II. Intérêt de la mesure de l'épaisseur du buffy coat</b> -----	25

### **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

<b>I. Matériel et méthodes</b> -----	27
I.1. Contrôle qualité-----	27
I.1.1. Contrôle qualité quotidien de l'automate Sysmex XT-2000iV-----	27
I.1.2. Vérification de la calibration de la centrifugeuse à microhématocrite-----	28
I.2. Etude comparative-----	29
I.2.1. Critères d'inclusion-----	29
I.2.2. Analyse des spécimens-----	29
I.2.2.1. Passage sur l'analyseur d'hématologie Sysmex XT-2000iV-----	29
I.2.2.2. Réalisation du microhématocrite-----	30
I.2.2.3. Réalisation du frottis sanguin-----	32
I.2.2.4. Lecture du microhématocrite et mesure du buffy coat-----	33
I.2.2.5. Coloration et lecture du frottis sanguin-----	36
I.2.3. Enregistrement des données-----	38
I.2.4. Analyses statistiques-----	38

<b>II. Résultats</b> -----	39
II.1. Calibration de la centrifugeuse à microhématocrite-----	39
II.2. Reproductibilité des numérations effectuées par l'automate Sysmex XT-2000iV--	39
II.3. Les plaquettes-----	40
II.3.1. Numérations plaquettaires-----	40
II.3.2. Analyse des frottis sanguins-----	41
II.4. Les microhématocrites-----	41
II.4.1. Lectures des microhématocrites à l'aide de l'abaque spécifique-----	41
II.4.2. Microhématocrites calculés à partir des mesures effectuées avec le papier millimétré et la règle-----	41
II.5. Les leucocytes-----	41
II.5.1. Numérations leucocytaires-----	41
II.5.2. Analyse des frottis sanguins-----	43
II.5.3. Leucocytes calculés à partir des lectures effectuées avec l'abaque spécifique-----	43
II.5.4. Leucocytes calculés à partir des mesures effectuées avec le papier millimétré et la règle-----	43
II.6. Résultats statistiques-----	44
II.6.1 Comparaison des lecteurs-----	44
II.6.1.1 Utilisation du papier millimétré-----	44
II.6.1.2 Utilisation de la règle et de l'abaque-----	45
II.6.2 Comparaison des prélèvements en duplicate-----	45
II.6.2.1 Papier millimétré-----	45
II.6.2.2 Règle-----	45
II.6.2.3 Abaque-----	45
II.6.3 Comparaison des méthodes de mesure de l'épaisseur du buffy coat-----	46
<b>III. Discussion</b> -----	48
III.1. Méthode de microhématocrite-----	48
III.1.1. Excès d'anticoagulant-----	48
III.1.2. Homogénéisation du sang-----	48
III.1.3. Temps de centrifugation-----	49
III.1.4. Interfaces-----	49
III.1.5. Plaquettes-----	51

III.2. Lecture-----	52
III.2.1. Contraste-----	52
III.2.2. Précision-----	52
III.2.3. Agrégats-----	52
III.3. Intérêt de la méthode semi-quantitative et application en cabinet vétérinaire-----	53
III.3.1. Intérêt de la méthode semi-quantitative dans le diagnostic rapide des leucocytoses marquées-----	56
III.3.2. Intérêt de la méthode semi-quantitative dans le diagnostic rapide des leucopénies-----	57
III.3.3. Application en cabinet vétérinaire-----	59
<b>Conclusion-----</b>	<b>61</b>
<b>Annexes-----</b>	<b>63</b>
<b>Références bibliographiques-----</b>	<b>84</b>

## TABLE DES ABREVIATIONS

- **ABA** : abaque
- **BC** : buffy coat
- **EDTA** : acide éthylène diamine tétracétique
- **Ht** : microhématocrite
- **MIL** : papier millimétré
- **PCV** : packed cell volume
- **REG** : réglette
- **GNN** : granulocytes neutrophiles
- **GNE** : granulocytes éosinophiles
- **GNB** : granulocytes basophiles
- **IR** : intervalles de références
- **QBC** : quantitative buffy coat
- **QBC-V** : quantitative buffy coat vétérinaire
- **GR** : globules rouges
- **NCCLS** : national committee for clinical laboratory standards
- **MGG** : May – Grünwald Giemsa
- **WBC** : white blood cell
- **PLT-O** : numération plaquettaire par la méthode optique de l'automate XT-2000iV(Sysmex)
- **ABA Ht** : moyenne des microhématocrites lus à l'aide de l'abaque spécifique
- **ABA BC = ABA BC<sub>m</sub> = moyenne ABA BC** : moyenne des leucocytes calculés à partir des mesures effectuées à l'aide de l'abaque spécifique
- **MIL BC = MIL BC<sub>m</sub> = moyenne MIL BC** : moyenne des leucocytes calculés à partir des mesures effectuées à l'aide du papier millimétré
- **REG BC = REG BC<sub>m</sub> = moyenne REG BC** : moyenne des leucocytes calculés à partir des mesures effectuées à l'aide de la réglette

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

### **Index des figures :**

- 1 : Calcul de l'hématocrite-----	22
- 2 : Répartition cellulaire du buffy coat chez le chien-----	23
- 3 : Réalisation du microhématocrite-----	31
- 4 : Réalisation du frottis sanguin-----	33
- 5 : Mesure effectuées sur le tube à microhématocrite-----	35
- 6 : Zones de lecture des frottis sanguins-----	37
- 7 : Présentation des prélèvements (N° associé) en dehors de l'IR-----	54
- 8 : Corrélations des résultats de numérations leucocytaires par l'automate XT-2000iV avec la lecture du BC selon la méthode de l'abaque pour les 65 prélèvements sanguins de chien-----	55

### **Index des photographies :**

- 1 : Analyseur d'hématologie Sysmex XT-2000iV-----	27
- 2 : Centrifugeuse à microhématocrite Haematokrit 210 Hettich Zentrifugen-----	28
- 3 : Plateau de centrifugation-----	32
- 4 : Abaque de lecture spécifique pour microhématocrite-----	34
- 5 : Réglette précise au demi-millimètre-----	35
- 6 : Automate à coloration avec carrousel de chargement de lames (Aerospray 7150 Hematology Slide Stainer Cytocentrifuge, Wescor)-----	37
- 7 : Epaisseur du buffy coat du prélèvement n° 58, leucocytose-----	50
- 8 : Epaisseur du buffy coat du prélèvement n° 62, leucopénie-----	50

## Index des tableaux :

- 1 : Code de transcription utilisé pour la lecture des microhématocrites et buffy coat-----	36
- 2 : Résultats de calibration de la centrifugeuse à microhématocrite-----	39
- 3 : Reproductibilité des numérations plaquettaires effectuées par l'automate-----	64
- 4 : Reproductibilité des numérations leucocytaires effectuées par l'automate-----	64
- 5 : Résultats des numérations plaquettaires pour les 65 prélèvements sanguins de chien-----	40
- 6 : Agrégats plaquettaires recherchés par lecture des frottis-----	65
- 7 : Microhématocrites lus à l'aide de l'abaque spécifique-----	66
- 8 : Résultats des mesures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(1)-----	67
- 9 : Résultats des mesures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(2)-----	68
- 10 : Résultats des mesures effectuées avec la règle pour le Ht(1)-----	69
- 11 : Résultats des mesures effectuées avec la règle pour le Ht(2)-----	70
- 12 : Résultats des numérations leucocytaires-----	42
- 13 : Agrégats leucocytaires recherchés par lecture des frottis-----	71
- 14 : Résultats des leucocrites calculés à partir de lectures effectuées avec l'abaque spécifique pour le Ht(1)-----	72
- 15 : Résultats des duplicates de leucocrites calculés à partir de lectures effectuées avec l'abaque spécifique pour le Ht(2)-----	73
- 16 : Résultats des leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(1)-----	74
- 17 : Résultats des duplicates de leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec le papier millimétré le Ht(2)-----	75
- 18 : Résultats des leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec la règle pour le Ht(1)-----	76
- 19 : Résultats des duplicates de leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec la règle pour le Ht(2)-----	77
- 20 : Résultats statistiques des mesures effectuées avec le papier millimétré-----	78
- 21 : Résultats statistiques des mesures effectuées avec la règle-----	80
- 22 : Résultats statistiques des mesures effectuées avec l'abaque de lecture spécifique pour microhématocrite-----	82
- 23 : Formule leucocytaire physiologique chez le chien-----	59

## **Index des graphiques :**

- 1 : Comparaison des méthodes de mesure avec le papier millimétré et la règle-----46
- 2 : Comparaison des méthodes de mesure avec l'abaque et la règle-----47
- 3 : Comparaison des méthodes de mesure avec le papier millimétré et l'abaque-----47

# **Etude comparative de la mesure de l'épaisseur du buffy coat avec les valeurs chiffrées de l'hémogramme chez le chien**

## **Introduction**

L'hématologie vétérinaire connaît un intérêt grandissant auprès des praticiens. En effet, utile au quotidien, elle permet d'apporter un grand nombre d'informations orientant le clinicien dans sa démarche diagnostique. C'est dans cette optique que nous avons mené notre étude. Les globules blancs, facilement concentrés par centrifugation, forment une couche blanchâtre appelée couche leuco-plaquettaire ou buffy coat que nous avons étudiée. Toujours dans un souci de réalisation pratique au quotidien dans un cabinet vétérinaire, nous avons étudié plusieurs méthodes de mesure de l'épaisseur du buffy coat, aussi simples les unes que les autres.

De plus, nous savons qu'une étude a été publiée portant sur la corrélation entre la mesure de l'épaisseur des différentes couches du buffy-coat observées sur QBC Vet-autoread et les valeurs chiffrées de l'hémogramme obtenues par impédance chez le chien, le chat et le cheval [Brown SA 1988]. La méthodologie de mesure des couches cellulaires n'y est pas clairement détaillée. A notre connaissance, aucune étude n'a porté sur la corrélation entre la mesure de l'épaisseur du buffy coat obtenue sur tube à microhématocrite conventionnel et les numérations leucocytaires obtenues par un analyseur d'hématologie utilisant la cytométrie en flux.

Le but de notre étude est donc de comparer l'épaisseur du buffy coat sur tube à microhématocrite avec les numérations leucocytaires obtenues par l'analyseur XT-2000iV (Sysmex, Kobe, Japon) en respectant les recommandations du National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) élaborées en médecine humaine pour la détermination de l'hématocrite par la méthode du microhématocrite [NCCLS 2000]. Les numérations leucocytaires et plaquettaires du XT-2000iV seront interprétées en réalisant l'analyse conjointe du frottis sanguin.

Après une présentation du microhématocrite, du buffy coat et de l'intérêt du diagnostic rapide de leucocytose et de leucopénie, nous nous consacrerons à notre étude expérimentale au travers d'une soixantaine de prélèvements de sang de chiens.

# **PREMIERE PARTIE : PRESENTATION ET INTERET DE L'ETUDE**

## **I. MICROHEMATOCRITE ET BUFFY COAT**

### **I.1. Historique**

La notion de buffy coat a été appréhendée, en médecine humaine, il y a plus d'un siècle par ADDISON en 1840. Il a observé le regroupement des cellules blanches au dessus des cellules rouges après sédimentation ou centrifugation de sang rendu incoagulable. Peu d'études se sont penchées par la suite sur cette découverte. Il a fallu attendre les travaux fondamentaux de WINTROBE en 1933 pour une étude complète et développée sur le buffy coat. En 1929, WINTROBE travaille sur l'hématocrite auquel il donne son nom, mais il veut aller au delà de la simple mesure de la masse érythrocytaire compactée ou Packed Cell Volume (PCV) et en 1933, il étudie le volume des leucocytes et plaquettes compactés. Il remarque que l'anneau blanc-grisâtre localisé au dessus du culot de GR peut se subdiviser en deux parties : une couche supérieure composée de plaquettes surmonte une couche de leucocytes. Ce n'est qu'en 1941 que BESSIS montre l'existence de deux couches distinctes de leucocytes : les granulocytes situés au dessous des non-granulocytes. Dans les années 1960, BESSIS et DAVIDSON identifient et situent au sein du buffy coat les différentes couches leucocytaires : granulocytes, lymphocytes et monocytes grâce à leurs densités respectives. ZUCKER et CASSEN confirment en 1969 cette stratification des leucocytes. C'est en 1983 que WARDLAW et LEVINE mettent en place une technique de visualisation du buffy coat qui permet la distension de celui-ci, avec respect des proportions des différentes couches cellulaires, par introduction d'un flotteur dans le microtube. L'analyse est ensuite réalisée à l'aide d'un automate d'hématologie spécifique : le Quantitative Buffy Coat (QBC).

## I.2. Définitions

Le terme hémocrite, nom masculin, vient du grec « haima » et « krinein » signifiant respectivement « sang » et « séparer » d'où la définition étymologique : séparation du sang. L'hémocrite est plus précisément le volume occupé par les globules rouges dans un litre de sang. Il s'exprime en litre par litre (L/L) (Unité Internationale) ou, dans la pratique courante, en pourcentage (%) [JAIN, 1986 ; VOIGT, 2000]. ( $L/L = \% \times 10^{-2}$ )

$$\text{Hématocrite (Ht)} = \frac{\text{Hauteur (ou volume) du culot érythrocytaire (2)}}{\text{Hauteur (ou volume) totale (1)}} \quad (\% \text{ ou L/L})$$

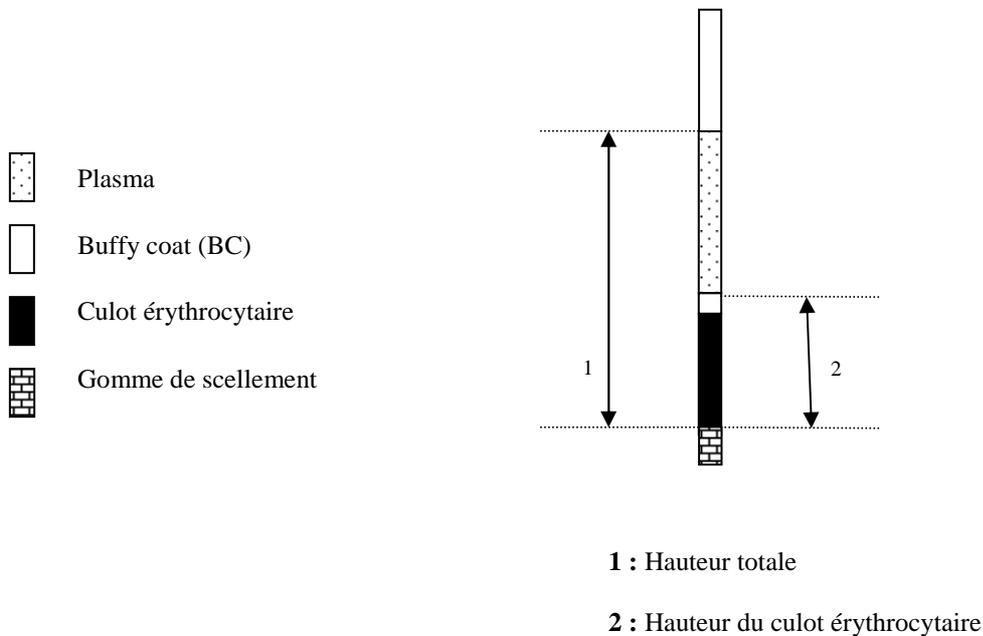


Figure 1 : Calcul de l'hématocrite

L'**hématocrite** est donc une valeur calculée. Ce terme est couramment utilisé à la place de **Packed Cell Volume (PCV)** qui est une valeur mesurée par le QBC correspondant à la masse érythrocytaire compactée [WILLARD, 1999]. En effet, le PCV correspond à la mesure de la hauteur du culot érythrocytaire et non à son calcul. De plus, le **microhématocrite**, valeur calculée, est largement nommé hémocrite. Le microhématocrite est obtenu à partir de la centrifugation de sang rendu incoagulable dans un tube capillaire tandis que l'hématocrite est

réalisé avec un tube spécifique appelé « tube à hémocrite de Wintrobe ». Ces trois notions : hémocrite, packed cell volume et microhémocrite souvent utilisées les unes pour les autres sont sensiblement identiques.

Le **buffy coat**, littéralement « manteau blanc », est la couche leuco-plaquettaire visualisable après sédimentation ou centrifugation de sang rendu incoagulable dans un tube de calibre uniforme. Chez le chien cet anneau de hauteur avoisinant le millimètre, est constitué, comme chez l'homme, de plaquettes et de leucocytes alors que chez les bovins et ovins les granulocytes neutrophiles sont mélangés aux hématies [GUELF, 2006]. La partie supérieure de l'anneau de couleur crème est constituée essentiellement de plaquettes tandis que l'anneau gris inférieur est composé de leucocytes. La séparation des couches cellulaires est fondée sur une différence de densité des sous-populations cellulaires. Par exemple, chez le chien, la densité des monocytes est de  $1,065 \text{ g/cm}^3$ , des lymphocytes de  $1,071 \text{ g/cm}^3$ , des granulocytes neutrophiles (GNN) de  $1,077 \text{ g/cm}^3$  et celle des éosinophiles (GNE) est intermédiaire à celle des lymphocytes et des GNN (Figure 2).

Chez l'Homme, cette stratification cellulaire est identique à l'exception des granulocytes éosinophiles qui présentent une densité supérieure à celle des granulocytes neutrophiles [JAIN 1986 et 1993 ; THRALL, 2004 ; VOIGT, 2000 ; BUURMAN, 1982].

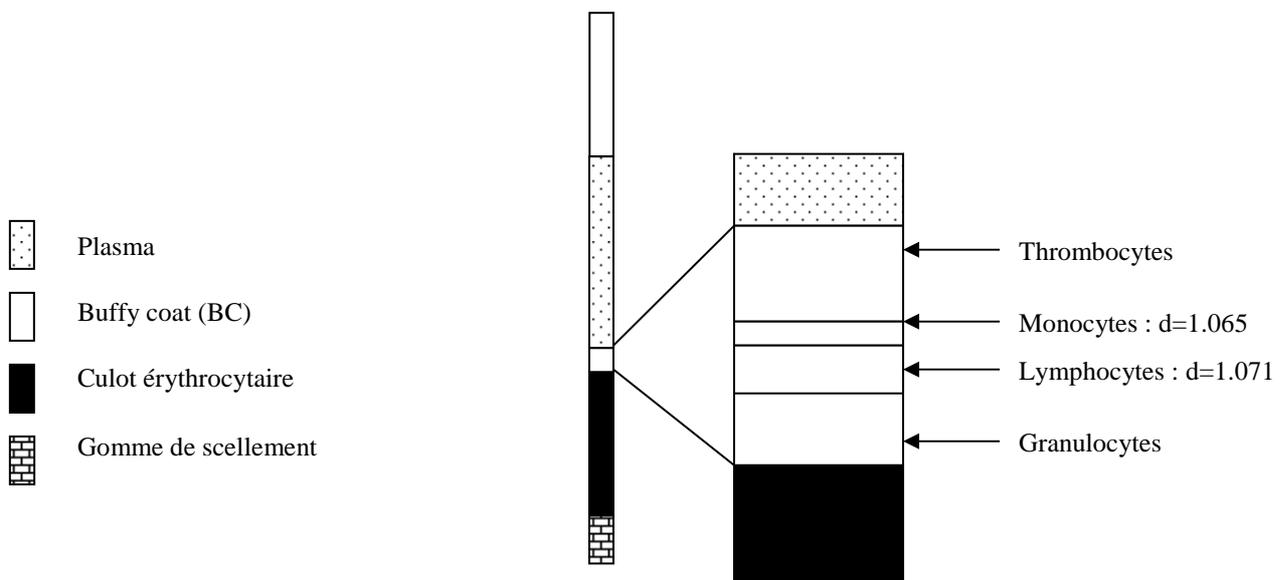


Figure 2 : Répartition cellulaire du buffy coat chez le chien

Il existe plusieurs méthodes d'obtention du buffy coat. La première technique est celle de WINTROBE par centrifugation longue, supérieure à trente minutes, de 0,5 à 1 millilitre de sang rendu incoagulable [VOIGT, 2000]. Une autre méthode communément appelée microméthode, utilisée dans notre étude, utilise un tube à microhématocrite. Ce dernier est un microtube capillaire de 75 à 100 millimètre de longueur et d'un millimètre de diamètre. La centrifugation s'effectue, dans cette méthode, à grande vitesse, de l'ordre de 10 000 tours par minute soit 9 000 g, et pendant une durée relativement courte de l'ordre de cinq minutes. Il est à remarquer que pour des ovins le temps de centrifugation est plus long, de l'ordre de 10 à 20 minutes [JAIN, 1993 ; REBAR, 1988]. Remarquons dorénavant que cette dernière méthode d'obtention du buffy coat : la microméthode, est d'une extrême simplicité. Sa technique est simple, rapide, sans manipulation délicate et ne nécessite pas de matériel coûteux.

## II. INTERET DE LA MESURE DE L'ÉPAISSEUR DU BUFFY COAT

Le buffy coat, chez le chien, est constitué des leucocytes et des plaquettes. L'épaisseur de la couche leuco-plaquettaire dépend chez le chien du nombre et de la taille des leucocytes et des plaquettes [BESSIS, 1972]. Ainsi, la mesure de l'épaisseur du buffy coat est une approximation qui ne doit pas se substituer à une numération leucocytaire. En effet, par la présence des plaquettes dans le buffy coat, une thrombocytose peut être source d'erreur en induisant une surestimation du volume occupé par les leucocytes et donc une surestimation de la numération leucocytaire [BENJAMIN, 1978].

Des études ont montré qu'une grossière estimation de la numération leucocytaire pouvait être effectuée par observation de la hauteur de la couche leucocytaire dans le buffy coat dans un tube de Wintrobe gradué. Le premier millimètre correspond à 10 000 leucocytes par microlitre et chaque millimètre supplémentaire correspond à 20 000 leucocytes supplémentaires par microlitre. En pratique, un buffy coat inférieur à 0,5 mm suggère une leucopénie tandis qu'un buffy coat de plus de 1,5 mm peut être le signe d'une leucocytose. Cette estimation est très approximative car une variation de la taille des leucocytes et de leur compaction est à considérer. De plus, des plaquettes et des réticulocytes peuvent s'intercaler entre des leucocytes [BENJAMIN, 1978 ; JAIN, 1986 ; VOIGT, 2000].

De manière similaire, en recherche de diagnostic rapide, des études ont montré que les microorganismes de type bactérien se retrouvent dans la couche leuco-plaquettaire après centrifugation. Ce phénomène est dû, en partie, à leur phagocytose. Ce diagnostic rapide des septicémies ne doit en rien se substituer aux hémocultures. Il permet d'orienter le clinicien lors de résultats positifs en attendant les résultats de l'hémoculture [HUMPHREY, 1944].

Ainsi, nous comprenons, l'intérêt de mise en place de diagnostics rapides afin d'aider le clinicien au quotidien. Semi-quantitatifs, ces diagnostics rapides lui permettent de l'orienter rapidement dans sa démarche diagnostique. En effet, l'intérêt de notre étude est l'apport rapide d'une numération leucocytaire en mesurant l'épaisseur du buffy coat et en observant le frottis afin d'écartier une éventuelle thrombocytose [BENJAMIN, 1978]. En effet, la numération plaquettaire effectuée manuellement par lecture du frottis apparaît la méthode la plus sûre et la plus rapide. De plus, ces méthodes de diagnostics rapides ont comme véritable atout une grande facilité d'exécution.

Cependant, il faut être conscient que ces méthodes restent approximatives. Des analyses statistiques de comparaison avec les méthodes de référence sont nécessaires afin de valider ces outils de diagnostics rapides [JENSEN, 2006]. C'est en ce sens que notre étude se penche sur le diagnostic rapide des leucocytoses et leucopénies par mesure de l'épaisseur du buffy coat. Cette mesure semi-quantitative peut paraître grossière mais présente-t-elle tout de même un réel intérêt pour le praticien vétérinaire ?

# DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

## I. MATERIEL ET METHODES

### I.1. Contrôle qualité

#### I.1.1. Contrôle qualité quotidien de l'automate Sysmex XT-2000iV

Le XT-2000iV est contrôlé chaque matin par le laboratoire de biologie médicale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse : la calibration de l'analyseur est vérifiée par un échantillon de sang de contrôle (e-check, Sysmex, level 2) selon les recommandations du fabricant. Si un (ou plusieurs) analyte(s) sanguin(s) est en dehors des cibles fournies par le fabricant, l'échantillon contrôle est repassé. Si au troisième passage maximum, la (les) valeur(s) hors cible persiste, les opérations correctrices prévues par le fabricant sont mises en œuvre pour s'assurer du bon fonctionnement de l'analyseur jusqu'à résolution du problème et obtention de l'ensemble des analytes sanguins de contrôles dans les cibles.



Photographie 1 : Analyseur d'hématologie Sysmex XT-2000iV

### I.1.2. Vérification de la calibration de la centrifugeuse à microhématocrite

La centrifugeuse à microhématocrite Haematokrit 210 Hettich Zentrifugen est utilisée. Selon les recommandations du National Committee for Clinical Laboratory Standards [NCCLS 2000], il est réalisé deux duplicats distincts de microhématocrites à partir de sang frais de chien prélevé sur EDTA. Après homogénéisation du sang, les microhématocrites sont centrifugés trois minutes. La valeur de microhématocrite est lue et notée. Après avoir remis les duplicats dans la centrifugeuse, la durée de centrifugation est prolongée par intervalles de soixante secondes en notant après chaque intervalle de temps la nouvelle valeur de microhématocrite. La calibration s'achève lorsque la valeur de microhématocrite est identique sur deux intervalles de temps successifs. Le temps minimum de centrifugation permettant une compaction optimale des globules rouges (Packed Cell Volume) est le second intervalle de temps donnant une même valeur de microhématocrite sur deux centrifugations successives. La calibration, effectuée en début d'expérimentation, est réalisée avec au moins un échantillon sanguin possédant une valeur de microhématocrite  $\geq 0,50$  (50%).



Photographie 2 : Centrifugeuse à microhématocrite Haematokrit 210 Hettich Zentrifugen

## **I.2. Etude comparative**

### **I.2.1. Critères d'inclusion**

Les critères d'inclusion des prélèvements sanguins suivent les recommandations élaborées pour les études de comparaison [Jensen AL 2006].

Soixante cinq prélèvements sanguins de chiens présentés en consultations de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse sont réalisés sur tubes K<sub>3</sub>-EDTA de 4 ml par ponction de la veine jugulaire par système de tubes sous vide. Dès leur arrivée au laboratoire de Biologie médicale, les tubes sont enregistrés sur le cahier du laboratoire. Sont exclus de l'expérimentation tous les tubes:

- insuffisamment remplis
- présentant un caillot sanguin
- amenés au laboratoire plus de deux heures après ponction veineuse
- tous les cas pour lesquels la numération plaquettaire, obtenue par cytométrie, est en dehors de l'intervalle de référence défini chez le chien pour l'analyseur Sysmex XT-2000iV. (PLT-O :  $117,9 \cdot 10^9/L$  -  $559,5 \cdot 10^9/L$ )

### **I.2.2. Analyse des spécimens**

#### **I.2.2.1. Passage sur l'analyseur d'hématologie Sysmex XT-2000iV**

Les prélèvements sanguins, passés en duplicates, sont analysés sur l'analyseur XT-2000iV combinant le principe de la variation d'impédance et de la cytométrie en flux. Les données sont sauvegardées automatiquement par le logiciel de traitement des analyses du XT-2000iV. Ces données sources sont récupérées et converties pour être exploitées sous la forme de fichiers Excel. Une sortie papier de l'analyse est archivée dans le classeur d'expérimentation pour chaque duplicate. Les résultats des numérations plaquettaire et leucocytaire sont retranscrits sur le cahier d'expérimentation.

### **I.2.2.2. Réalisation du microhématocrite**

Selon les recommandations du NCCLS [NCCLS 2000], le tube EDTA de sang est préalablement retourné complètement 8 fois consécutives pour s'assurer d'une parfaite homogénéisation du sang puis est débouché. Deux tubes à microhématocrite sont remplis par capillarité jusqu'au 2/3 à 3/4 de leur hauteur à partir du tube EDTA [THRALL, 2004]. Chaque tube à microhématocrite est essuyé avec un papier absorbant. Le tube à microhématocrite est tenu horizontalement et scellé avec de la gomme de scellement spécifique (Vitrex®) en faisant un angle de 90°. Le tube à microhématocrite est tourné doucement dans la gomme puis retiré. Le bouchon de gomme mesure au minimum 4mm de long et apparait bien plan et perpendiculaire à l'axe du tube. Les duplicatas de microhématocrite sont déposés dans la centrifugeuse, l'un face à l'autre avec la gomme tournée vers l'extérieur. La centrifugation est effectuée à 13 000 tours par minute (14 000g) pendant un temps préalablement déterminé. Après centrifugation, le tube à microhématocrite est sorti puis les points suivants sont chronologiquement vérifiés :

1/ Les sommets des culots de globules rouges (GR) et du buffy coat sont plans et perpendiculaires à l'axe principal du tube. Si ce n'est pas le cas, un nouveau duplicate est réalisé.

2/ Si la surface du culot des GR est plane, la valeur de microhématocrite est lue.

3 / Si la surface du buffy coat est plane, le tube à microhématocrite est déposé à plat et la mesure du buffy coat est réalisé.

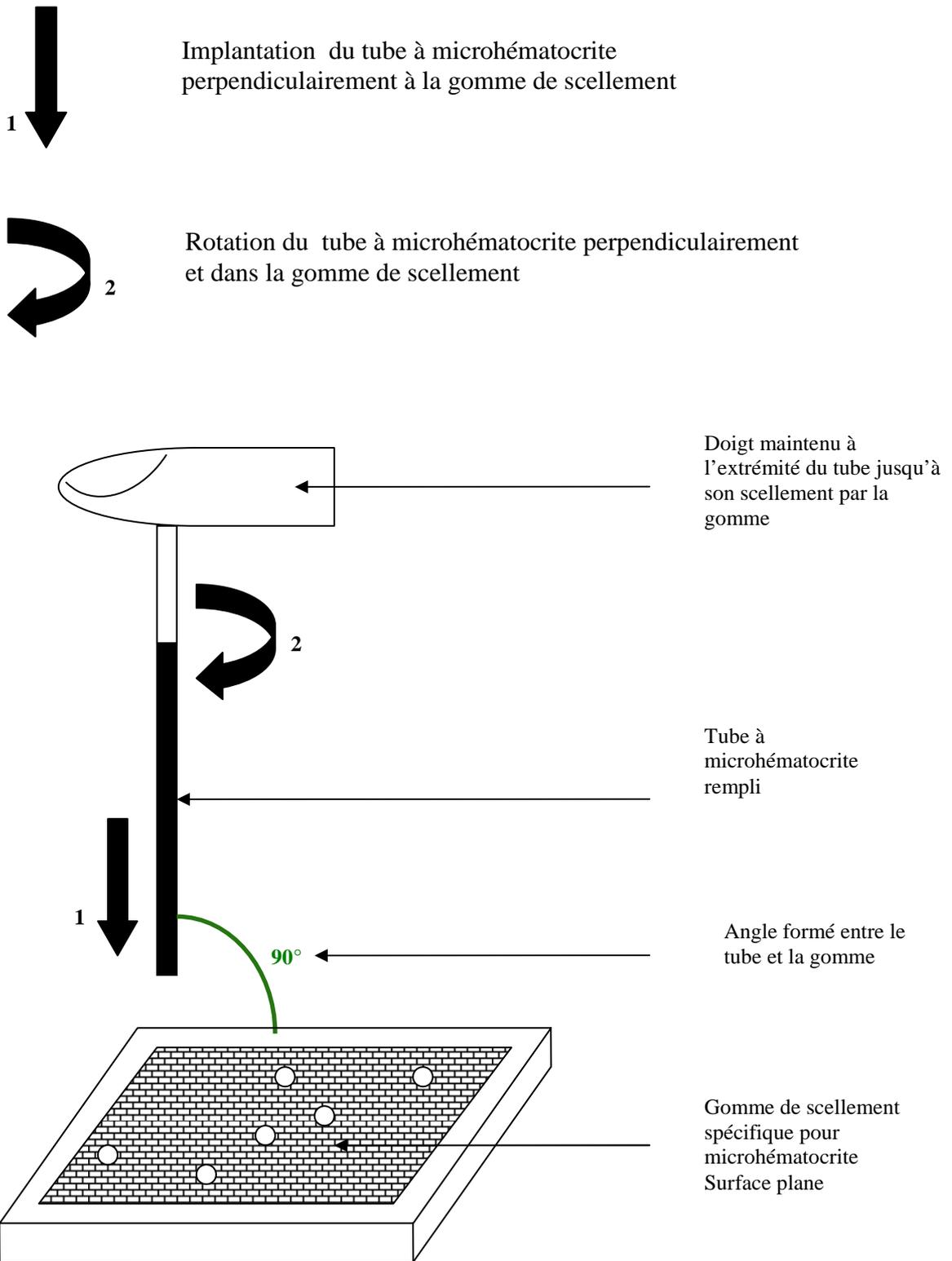
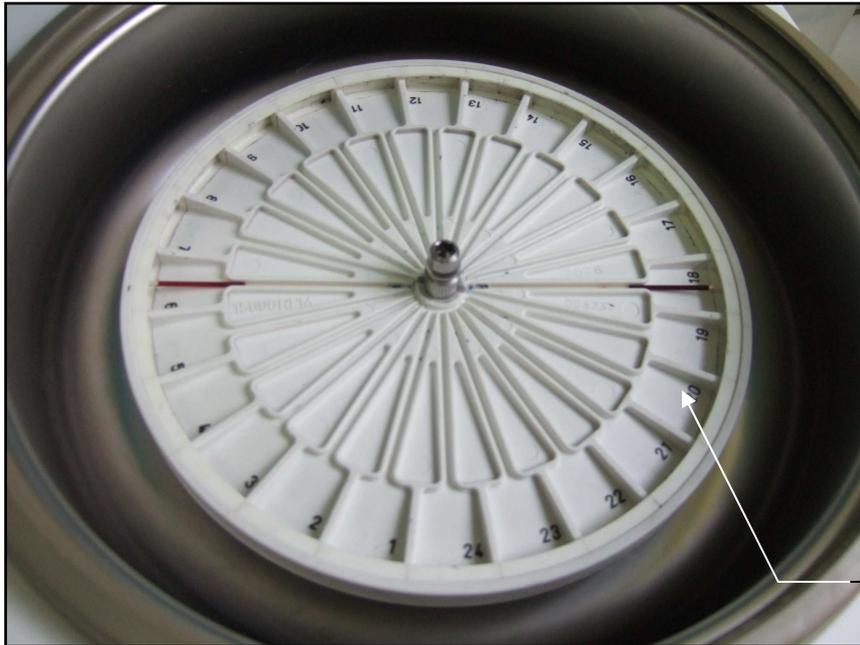


Figure 3 : Réalisation du microhématocrite



Photographie 3 : Plateau de centrifugation

Tubes à microhématocrite centrifugés disposés face à face, gomme à l'extérieur

### **I.2.2.3. Réalisation du frottis sanguin**

Deux frottis sanguins sont réalisés et identifiés. Une goutte de sang de petite taille est déposée sur une lame porte-objet lavée et dégraissée à l'aide d'une pipette pasteur à usage unique. Une lame rodée de largeur inférieure à celle de la lame porte-objet est amenée au contact de la goutte de sang selon un angle de  $45^\circ$  afin que le sang se répartisse sur toute la largeur de la lame rodée.

L'étalement de sang s'effectue par glissement de la lame rodée d'un mouvement régulier uniforme sur la lame porte-objet. Le frottis obtenu doit avoir une longueur correspondant aux  $2/3$  environ de la longueur de la lame porte-objet. Le frottis est immédiatement séché par agitation manuelle de la lame (Figure 4).

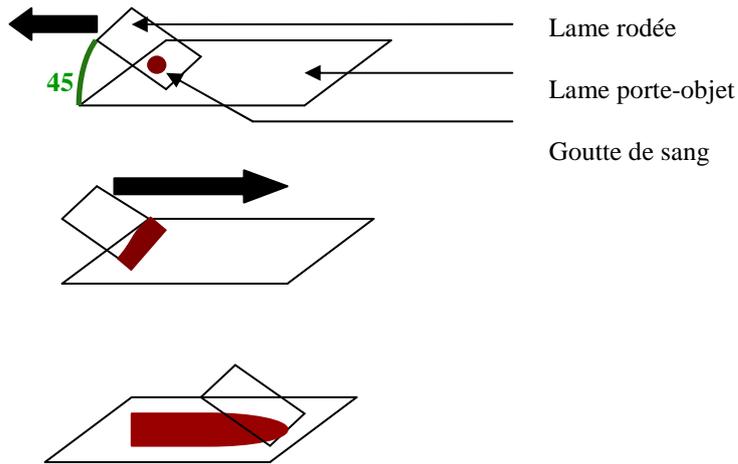


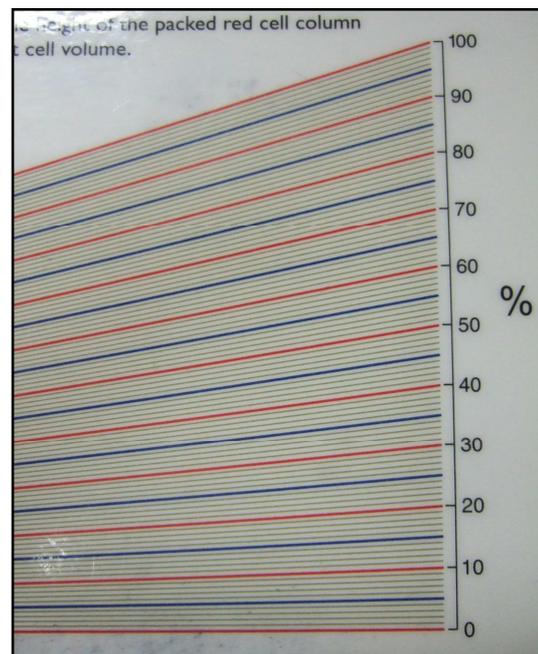
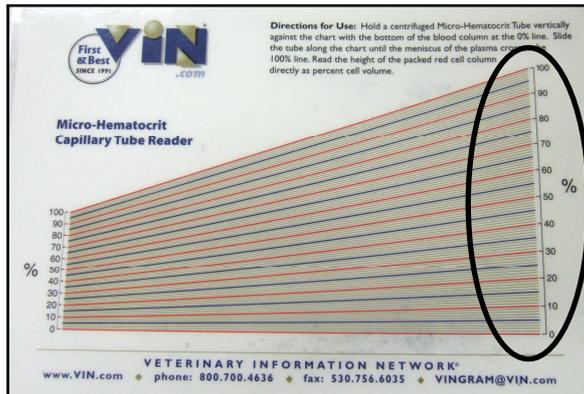
Figure 4 : Réalisation du frottis sanguin

#### I.2.2.4. Lecture du microhématocrite et mesure du buffy coat

La lecture du Ht et la mesure de la hauteur du buffy coat s'effectue selon trois modalités différentes utilisant soit :

1/ un abaque (ABA) de lecture spécifique pour Ht d'une précision de lecture égale à 0,0025 soit 0,25% (Photographie 4) :

- Ht : le bas du culot des globules rouges (GR) est positionné sur la graduation 0 de l'abaque et le sommet du plasma sur la graduation 100 : la valeur de microhématocrite correspondant au sommet du culot des globules rouges est lue directement [THRALL, 2004].
- BC: le tube à Ht est positionné comme pour la lecture du microhématocrite en lisant la graduation correspondant au sommet du buffy coat. La différence « valeur BC – valeur Ht » est effectuée pour avoir la valeur vraie du buffy coat.



Photographie 4 : Abaque de lecture spécifique pour microhématocrite

2/ une feuille de papier millimétré (MIL) :

- Ht : la hauteur du culot de GR et la hauteur correspondant au sommet du plasma pour établir le rapport hauteur culot GR/ hauteur totale correspondant au Ht (ou PCV : packed cell volume) est notée. (Recommandation NCCLS) (Figure 5).
- BC: la hauteur au sommet du BC et la hauteur au sommet du plasma sont notés. Le rapport hauteur BC (= hauteur au sommet du BC – hauteur du culot de globules rouges) / hauteur au sommet du plasma est ensuite calculée (Figure 5).

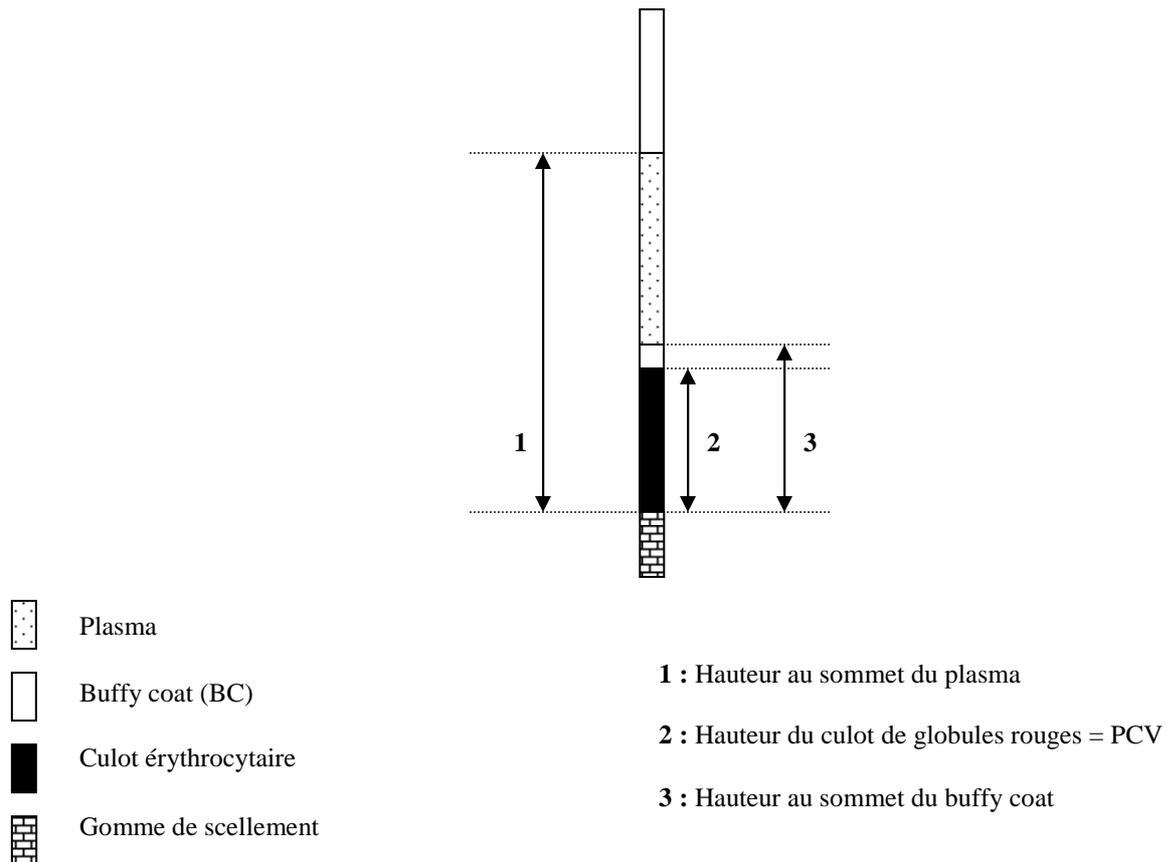
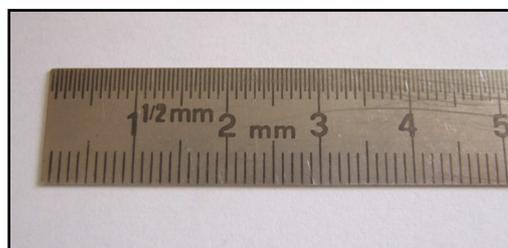


Figure 5 : Mesures effectuées sur le tube à microhématocrite

3/ une réglette (REG) précise au demi-millimètre :

- Les modalités de mesure sont identiques à celles réalisées avec le papier millimétré



Photographie 5 : Réglette précise au demi-millimètre utilisée

Pour chaque méthode de lecture, une double lecture est réalisée sur chaque tube avec transcription immédiate des résultats sur le cahier d'expérimentation avec le code de transcription suivant :

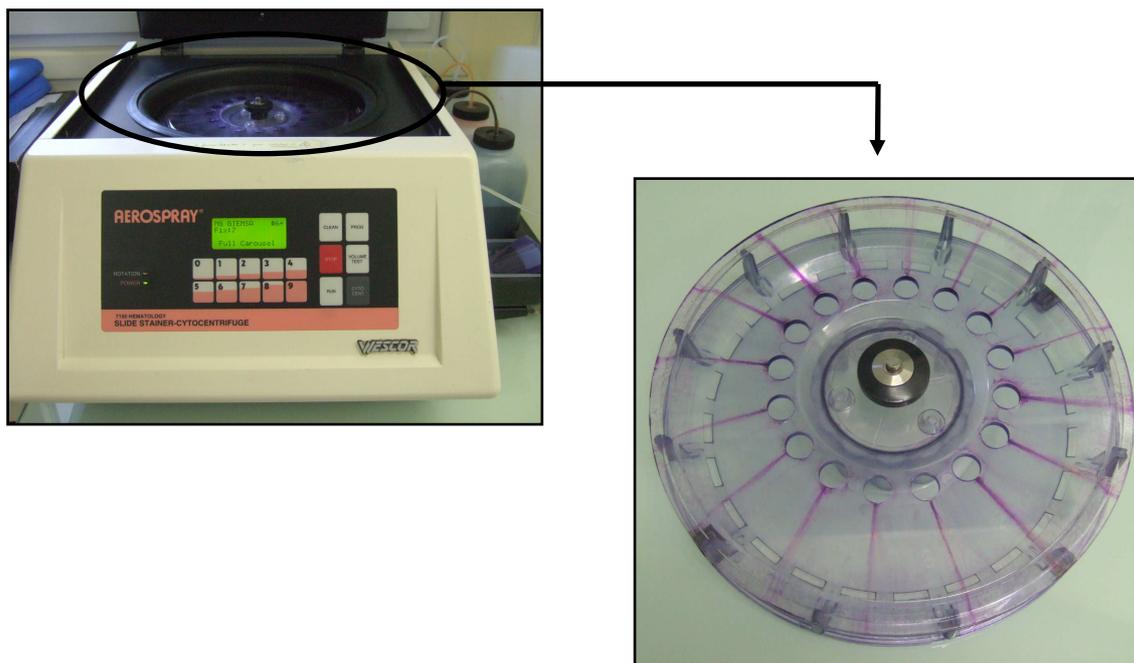
ABA Ht, ABA BC ; MIL Ht, MIL BC ; REG Ht, REG BC pour les mesures Ht et BC réalisées respectivement avec ABA, MIL et REG.

ABA Ht	Microhématocrite lu à l'aide de l'abaque de lecture spécifique pour microhématocrite
ABA BC	Leucocrite calculé à partir des mesures effectuées à l'aide de l'abaque de lecture spécifique pour microhématocrite
MIL Ht	Microhématocrite calculé à partir de mesures effectuées à l'aide de papier millimétré
MIL BC	Leucocrite calculé à partir de mesures effectuées à l'aide de papier millimétré
REG Ht	Microhématocrite calculé à partir de mesures effectuées à l'aide d'une règlette précise au demi-millimètre
REG BC	Leucocrite calculé à partir de mesures effectuées à l'aide d'une règlette précise au demi-millimètre

Tableau 1 : Code de transcription utilisé pour la lecture des microhématocrites et buffy coat

#### **I.2.2.5. Coloration et lecture du frottis sanguin**

Les frottis sanguins sont colorés au May-Grünwald Giemsa (MGG) par un automate à coloration (Aerospray, Wescor, 7150 Hematology Slide Stainer Cytocentrifuge) (Photographie 6).



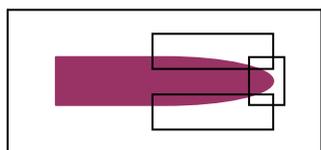
Photographie 6 : Automate à coloration avec carroussel de chargement de lames (Aerospray 7150 Hematology Slide Stainer Cytocentrifuge, Wescor)

La lecture des frottis sanguins a été réalisée au laboratoire en utilisant indifféremment l'un des trois microscopes présents :

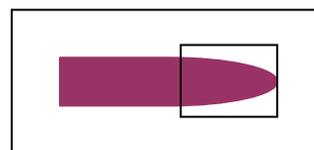
- OLYMPUS BX60
- NIKON ECLIPSE E200
- NIKON ECLIPSE E400

Ces trois microscopes sont équipés d'objectifs x10, x20, x40 et x100 sous immersion.

La lecture du frottis réalisée à l'aide des objectifs x10, x20, x40 est semi-quantitative. Elle autorise l'appréciation des populations plaquettaire et leucocytaire avec identification des agrégats plaquettaires et leucocytaires éventuels. Seuls les critères de présence ou d'absence sont retenus.



Zones d'observation des agrégats plaquettaires



Zone d'observation des agrégats leucocytaires

Figure 6 : Zones de lecture des frottis sanguins

### **I.2.3. Enregistrement des données**

Un cahier d'expérimentation aux pages numérotées permet de saisir pour chaque prélèvement sanguin sélectionné les données suivantes :

- Le numéro d'enregistrement de l'étude : le 1<sup>er</sup> prélèvement sélectionné pour l'étude a été identifié N°1, et numérotations suivantes par ordre croissant
- Le numéro d'enregistrement attribué par le laboratoire de biologie médicale
- La date
- L'heure à laquelle le prélèvement a été réalisé
- Le statut clinique de l'animal : bonne santé (S) ou malade (M)
- Le tableau de saisie des résultats d'analyse du XT-2000iV de chaque duplicate : Numérations leucocytaire et plaquettaire, résultats des 3 modalités de lecture du microhématocrite, de la mesure du buffy-coat et résultats de lecture semi-quantitative des frottis sanguins

Une photocopie de toutes les impressions des résultats du XT-2000iV sera conservée dans le classeur d'expérimentation.

### **I.2.4. Analyses statistiques**

L'analyse statistique de comparaison de méthodes est réalisée [JENSEN, 2006] et les calculs effectués grâce au logiciel Excel et à l'application Analyze-it associée.

## II. RESULTATS

### II.1. Calibration de la centrifugeuse à microhématocrite

La vérification de la calibration de la centrifugeuse est effectuée à l'aide de deux prélèvements de sang de chien dont au moins un comporte un  $Ht \geq 0,50$  (50%).

Les prélèvements sont homogénéisés vingt minutes sur un agitateur de tubes (Speci Mix 11, Drew, Oxford, CT 06478 USA) puis centrifugés à 13 000 tours par minutes (14 000g). La lecture des Ht est réalisée à l'aide de l'abaque spécifique. Les résultats sont présentés dans le tableau 2.

Durée de centrifugation	Chien 1		Chien 2	
	Ht 1	Ht 1'	Ht 2	Ht 2'
3 minutes	0,53	0,52	0,5	0,5
4 minutes	0,52	0,52	0,5	0,5
5 minutes	0,52	0,52	0,5	0,5

Tableau 2 : Résultats de calibration de la centrifugeuse à microhématocrite

Le temps de centrifugation retenu pour la totalité de nos prélèvements est de cinq minutes.

### II.2. Reproductibilité des numérations effectuées par l'automate Sysmex XT-2000iV

Chaque prélèvement est analysé deux fois par le Sysmex XT-2000iV. L'analyse statistique de la reproductibilité des numérations plaquettaires et leucocytaires effectuées par cet analyseur est présentée dans les tableaux 3 et 4 en annexe.

Il n'y a pas eu de différence significative (test de Student en séries appariées,  $P > 0,005$ ) dans les mesures de numérations plaquettaires et leucocytaires par l'analyseur Sysmex XT-2000iV.

## II.3. Les plaquettes

### II.3.1. Numérations plaquettaires

Pour chaque prélèvement, deux numérations plaquettaires sont effectuées par le Sysmex XT-2000iV (Tableau 5). Notre étude s'intéresse aux prélèvements présentant une numération plaquettaire comprise dans l'intervalle de référence du chien pour cet analyseur c'est-à-dire entre  $117,9.10^9/L$  et  $559,5.10^9/L$

N°enregistrement du prélèvement sanguin	Numération plaquettaire (1) $10^3/\mu L$	Numération plaquettaire (2) $10^3/\mu L$	Moyenne
19	110	113	111,5
11	122	119	120,5
58	125	117	121
59	135	148	141,5
13	150	149	149,5
65	164	162	163
32	159	168	163,5
55	165	166	165,5
42	184	182	183
44	186	187	186,5
41	199	192	195,5
1	197	201	199
16	194	206	200
5	210	199	204,5
30	206	206	206
43	208	210	209
25	214	215	214,5
48	212	221	216,5
14	235	238	236,5
63	236	243	239,5
2	247	240	243,5
6	248	248	248
26	256	253	254,5
57	266	267	266,5
18	267	274	270,5
9	273	269	271
28	263	281	272
3	275	272	273,5
8	277	277	277
10	285	278	281,5
51	280	285	282,5
17	286	284	285
39	297	283	290
21	288	296	292
46	303	293	298
60	297	300	298,5
35	309	304	306,5
52	308	306	307
34	309	307	308
45	299	317	308
12	316	313	314,5
38	326	313	319,5
4	325	324	324,5
29	323	326	324,5
64	331	320	325,5
36	320	332	326
31	344	330	337
24	340	350	345
33	352	353	352,5
47	356	363	359,5
62	370	358	364
37	389	390	389,5
23	396	388	392
61	392	394	393
50	398	389	393,5
40	401	406	403,5
54	394	415	404,5
22	406	416	411
27	418	415	416,5
49	429	426	427,5
7	441	454	447,5
53	446	456	451
56	463	461	462
15	455	481	468
20	493	497	495

Tableau 5 : Résultats des numérations plaquettaires pour les 65 prélèvements sanguins de chien

### **II.3.2. Analyse des frottis sanguins**

Deux frottis sont réalisés par prélèvements sanguins et analysés pour rechercher d'éventuels agrégats plaquettaires (et/ou leucocytaires). Une double lecture est effectuée par une personne expérimentée en biologie médicale (Anne Geffré, Carine Lafond) et Claire-Lise Etienne. Les résultats sont présentés dans le tableau 6 en annexe. La recherche d'agrégats plaquettaires est concordante entre les deux lecteurs et les deux frottis réalisés pour chaque prélèvement présentent le même résultat : présence ou absence d'agrégat plaquettaire.

Treize prélèvements (N°2, N°14, N°16, N°22, N°23, N°30, N°35, N°36, N°38, N°46, N°48, N°50 et N°62) ont présentés des agrégats plaquettaires avec une numération plaquettaire comprise entre 200 et 411.  $10^9/L$ .

## **II.4. Les microhématocrites**

### **II.4.1. Lectures des microhématocrites à l'aide de l'abaque spécifique**

A chaque prélèvement correspond deux tubes à microhématocrites (1) et (2) pour lesquels les résultats sont présentés dans le tableau 7 en annexe.

### **II.4.2. Microhématocrites calculés à partir des mesures effectuées avec le papier millimétré et la règle**

Pour chaque tube à microhématocrite (1) et (2), les résultats des différentes mesures sont présentés dans les tableaux 8, 9 et 10, 11 respectivement.

## **II.5. Les leucocytes**

### **II.5.1. Numérations leucocytaires**

Pour chaque prélèvement, deux numérations leucocytaires sont effectuées par l'analyseur. Les prélèvements présentant une numération leucocytaire inférieure à la limite inférieure de l'intervalle de référence ( $5,6.10^9/L$ ) sont classés dans les leucopénies tandis que ceux

présentant une numération leucocytaire supérieure à la limite supérieure ( $20,4 \cdot 10^9/L$ ) sont classés dans les leucocytoses.

N°enregistrement du prélèvement sanguin	Numération leucocytaire Sysmex (1) $10^3/\mu L$	Numération leucocytaire Sysmex (2) $10^3/\mu L$	Moyenne Numérations Leucocytaires
3	0,84	0,79	0,815
63	1,15	1,15	1,15
62	1,24	1,19	1,215
61	1,2	1,25	1,225
23	1,41	1,44	1,425
53	1,39	1,53	1,46
8	1,59	1,68	1,635
55	2,44	2,2	2,32
5	3,54	3,46	3,5
42	4,05	4,05	4,05
64	4,23	4,4	4,315
65	4,69	4,44	4,565
17	5,25	5,3	5,275
<b>21</b>	<b>6,54</b>	<b>6,57</b>	<b>6,555</b>
43	6,67	6,75	6,71
7	6,72	6,87	6,795
30	6,99	6,88	6,935
36	7,25	7,09	7,17
37	7,38	7,65	7,515
28	7,76	7,47	7,615
44	7,89	7,72	7,805
14	8,05	7,72	7,885
38	7,96	7,89	7,925
22	7,85	8,07	7,96
20	8,95	7,12	8,035
32	8,06	8,03	8,045
40	8,14	8,16	8,15
51	8,44	8,44	8,44
12	9,28	9,12	9,2
46	9,34	9,41	9,375
10	9,57	9,24	9,405
33	10,11	9,89	10
29	10,56	10,44	10,5
41	10,61	10,79	10,7
9	10,76	11	10,88
27	11,05	11,14	11,095
16	11,17	11,06	11,115
24	12,12	12,05	12,085
25	13,27	13,3	13,285
4	13,51	13,45	13,48
34	14,27	14,17	14,22
18	14,39	14,39	14,39
6	14,68	14,4	14,54
45	14,91	14,47	14,69
15	14,72	14,97	14,845
48	16,02	15,81	15,915
13	17,57	17,25	17,41
35	17,96	17,46	17,71
31	17,73	17,73	17,73
26	18,18	18,25	18,215
39	18,74	18,53	18,635
49	19,39	19,3	19,345
<b>47</b>	<b>21,71</b>	<b>21,57</b>	<b>21,64</b>
50	22,15	22,37	22,26
11	23,75	24,21	23,98
52	25,49	25,04	25,265
2	26,9	26,98	26,94
1	28,05	28,32	28,185
60	34,34	34,64	34,49
56	36,79	36,92	36,855
57	39,74	40,87	40,305
19	42	42,53	42,265
54	42,57	42,06	42,315
58	51,16	50,41	50,785
59	58,28	58,57	58,425

Tableau 12 : Résultats des numérations leucocytaires

Vingt pourcents des prélèvements sont en leucocytose et vingt autres en leucopénie ce qui correspond à vingt six prélèvements sur soixante cinq en dehors de l'intervalle de référence des numérations leucocytaires. Nous pouvons noter qu'une large gamme de numérations leucocytaires est présente. Elle s'étend de 0,815 à 58,425.  $10^9/L$ .

### **II.5.2. Analyse des frottis sanguins**

Deux frottis sont réalisés par prélèvement sanguin et analysés pour rechercher d'éventuels agrégats leucocytaires. Les résultats sont présentés dans le tableau 13 en annexe.

Aucun agrégat n'a été observé à l'exception du prélèvement N°65 où de nombreux agrégats leucocytaires permettent de penser que la numération leucocytaire évaluée par le Sysmex à  $4,565 \cdot 10^3/\mu L$  est sous-estimée. La leucopénie affichée par l'automate apparaît erronée.

### **II.5.3. Leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec l'abaque spécifique**

Les résultats pour chaque tube à microhématocrite (1) puis (2) sont présentés dans les tableaux 14 et 15 respectivement, en annexe.

### **II.5.4. Leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec le papier millimétré et la règle**

Pour chaque tube à microhématocrite (1) et (2), les résultats des lectures effectuées avec le papier millimétré sont présentés dans les tableaux 16 et 17 respectivement et dans les tableaux 18 et 19 pour les lectures effectuées avec la règle, en annexe.

## **II.6. Résultats statistiques**

### **II.6.1 Comparaison des lecteurs**

Les méthodes de mesures utilisées sont élémentaires. Il s'agit de l'abaque de lecture spécifique pour microhématocrite, d'une réglette et de papier millimétré.

Des différences sensibles de mesures sont notables entre les lecteurs. Pour que ces différences de lectures soient significatives, il faut, d'après les tests d'égalité des espérances : pour des observations de paires (obs . pairées) que  $p$  soit inférieur à 0,05. Les tests statistiques nous permettent d'apprécier la reproductibilité des lectures. Les résultats sont présentés dans les tableaux 20,21 et 22 en annexe.

#### **II.6.1.1 Utilisation du papier millimétré**

Il n'y a pas eu de différence significative (test de Student en séries appariées,  $P > 0,05$ ) entre les lecteurs, en utilisant le papier millimétré, dans la mesure :

- de la hauteur du culot érythrocytaire du tube à Ht 1
- de la hauteur du plasma du tube à Ht 2
- de la hauteur au sommet du BC du tube à Ht 1

Par contre, il existe une différence significative entre les lecteurs dans la mesure :

- de la hauteur du plasma du tube à Ht 1 ( $P=0,03$ ) avec une différence moyenne de 0,16mm (mini : -0,5mm ; maxi : +1,6mm) et avec 90% des différences comprises entre -0,5 et +1.
- de la hauteur du culot érythrocytaire sur le tube à Ht 2 ( $P=0,01$ ) avec une différence moyenne de 0,1mm (mini : -1mm ; maxi : +0,5mm) et avec 90% des différences comprises entre -0,7 et +0,3.
- de la hauteur au sommet du BC sur le tube à Ht 2 ( $P=0,04$ ) avec une différence moyenne de 0,1mm (mini : -1,5mm ; maxi : +0,5mm) et avec 90% des différences comprises entre -0,8 et +0,5.

### **II.6.1.2 Utilisation de la règle et de l'abaque**

Il n'y a pas eu de différence significative entre les lecteurs, sur les deux tubes à Ht, par ces méthodes (test de Student en séries appariées  $P > 0,05$ ) dans la mesure :

- de la hauteur du culot érythrocytaire
- de la hauteur du plasma
- de la hauteur au sommet du BC

### **II.6.2 Comparaison des prélèvements en duplicate**

Il s'agit de comparer les résultats obtenus entre les deux tubes à Ht réalisés pour chaque prélèvement. Les résultats sont présentés dans les tableaux 20, 21 et 22 en annexe.

#### **II.6.2.1 Papier millimétré**

Il n'y a pas eu de différence significative (test de Student en séries appariées,  $P > 0,05$ ) entre les deux tubes à Ht pour la mesure du microhématocrite et du leucocrite.

#### **II.6.2.2 Règle**

Il n'y a pas eu de différence significative (test de Student en séries appariées,  $P > 0,05$ ) entre les deux tubes à Ht pour la mesure du microhématocrite.

Par contre, il existe une différence significative entre les deux tubes à Ht pour la mesure du leucocrite ( $P = 0,02$ ) avec une différence moyenne entre les leucocrites de 0,0006 (mini : - 0,006; maxi : +0,007) et avec 90% des différences comprises entre -0,004 et +0,004.

#### **II.6.2.3 Abaque**

Il n'y a pas eu de différence significative (test de Student en séries appariées,  $P > 0,05$ ) entre les deux tubes à Ht pour la mesure du leucocrite.

Par contre, il existe une différence significative entre les deux tubes à Ht pour la mesure du microhématocrite ( $P = 0,03$ ) avec une différence moyenne entre les microhématocrites de

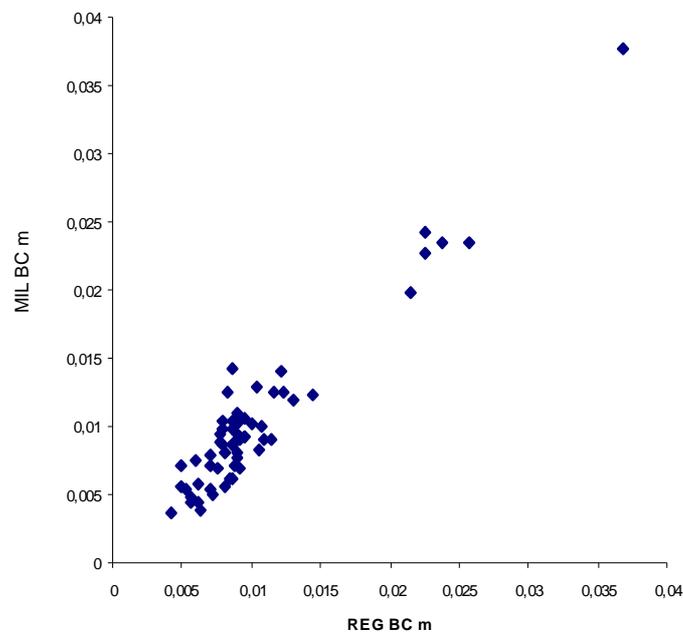
0,001 (mini : -0,015 ; maxi : +0,01) et avec 90% des différences comprises entre -0,005 et +0,0075.

Il est important de noter que face à un manque de précision de nos outils de mesure, les différences de mesures entre les lecteurs et entre les deux tubes à Ht, bien que statistiquement significatives, restent acceptables.

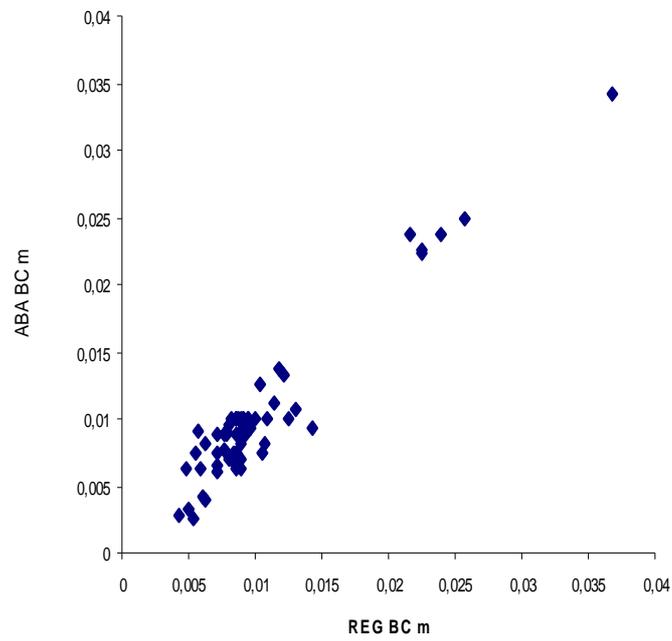
### II.6.3 Comparaison des méthodes de mesure de l'épaisseur du buffy coat

La comparaison des trois méthodes de mesure est réalisée à l'aide de graphiques 1, 2 et 3 reportés ci-dessous. Il nous est alors facile d'observer que nos trois méthodes de mesure sont comparables. Il n'existe pas de différence notable entre nos méthodes de mesure c'est pourquoi, nous avons décidé de n'en garder qu'une pour l'exploitation de nos résultats : l'abaque de lecture spécifique pour microhématocrite. Les arguments en faveur de cette méthode sont :

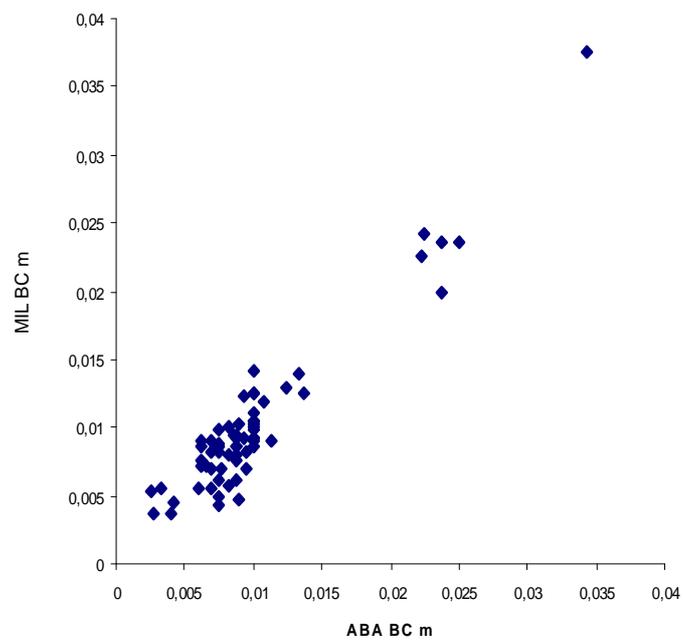
- sa plus grande facilité d'utilisation ressentie au quotidien par l'ensemble des utilisateurs,
- pas de différence dans les duplicatas dans la mesure du leucocrite



Graphique 1 : Comparaison des méthodes de mesure avec le papier millimétré et la réglette



Graphique 2 : Comparaison des méthodes de mesure avec l'abaque et la règlette



Graphique 3 : Comparaison des méthodes de mesure avec le papier millimétré et l'abaque

## **III. DISCUSSION**

### **III.1. Méthode du microhématocrite**

La méthode de microhématocrite utilisée dans cette étude suit les recommandations du NCCLS [NCCLS 2000]. Bien que cette méthode soit une des plus aisées à mettre en œuvre, juste et reproductible, en connaître les biais [STOCKHAN, 2008 ; WILLARD, 1999 ; VOIGT, 2000], nous permet d'appréhender les erreurs possibles et ainsi d'être critique vis-à-vis des résultats comme le diagnostic de leucocytoses et leucopénies.

#### **III.1.1. Excès d'anticoagulant**

Le volume de sang prélevé dans les tubes EDTA influence directement la concentration en anticoagulant dans le sang prélevé. Il est trivial d'admettre que plus un tube est rempli plus la concentration en EDTA dans le sang prélevé est faible. Il faut savoir qu'un excès d'EDTA entraîne une sous-estimation du PCV (Packed Cell Volume). En effet, un excès d'EDTA entraîne une augmentation du volume plasmatique et par conséquent une diminution du microhématocrite. Pour cette raison, nous avons décidé de n'admettre que des tubes remplis dans notre étude.

#### **III.1.2. Homogénéisation du sang**

Le remplissage du tube à microhématocrite s'effectue par capillarité. Le sang provenant du tube EDTA et s'écoulant dans le tube à microhématocrite doit être homogène c'est à dire représentatif du prélèvement. Il faut veiller à cette homogénéisation préalable au remplissage du tube à microhématocrite car le sang après ponction a tendance à sédimenter rapidement dans le tube si ce dernier est laissé immobile sur un support quelconque. Dans notre étude nous avons procédé à une homogénéisation mécanique à l'aide d'un agitateur de tubes pendant vingt minutes avant analyse. Un défaut d'homogénéisation donne une importance à la profondeur d'introduction du tube à microhématocrite dans le tube EDTA. Sédimenté, le sang se présente en couches. En fonction du prélèvement par capillarité d'une de ces couches, le microhématocrite sera très différent mais surtout non représentatif du prélèvement donc non interprétable.

### **III.1.3. Temps de centrifugation**

Le temps de centrifugation a son importance dans la compaction des cellules sanguines [JAIN 1986 et 1993]. Plus le temps de centrifugation est long plus les cellules sanguines seront départagées et compactées en fonction de leur densité. Un défaut de centrifugation, une durée de centrifugation trop courte entraîne une surestimation du PCV par défaut de compaction des globules rouges [WILLARD, 1999 ; REBAR, 1988]. La détermination du temps de centrifugation nécessite une calibration de la centrifugeuse simple à réaliser. Dans notre étude, un temps de centrifugation de 5 minutes à 14 000g a été validé.

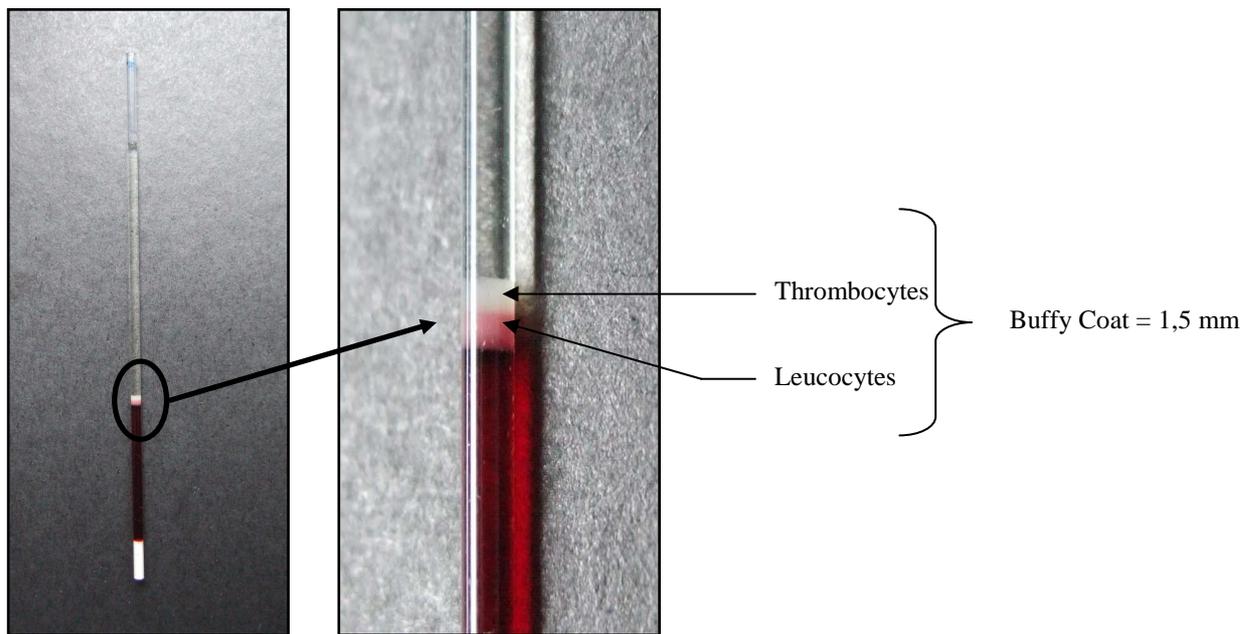
### **III.1.4. Interfaces**

Les interfaces entre les différentes couches sont la base de la précision de lecture.

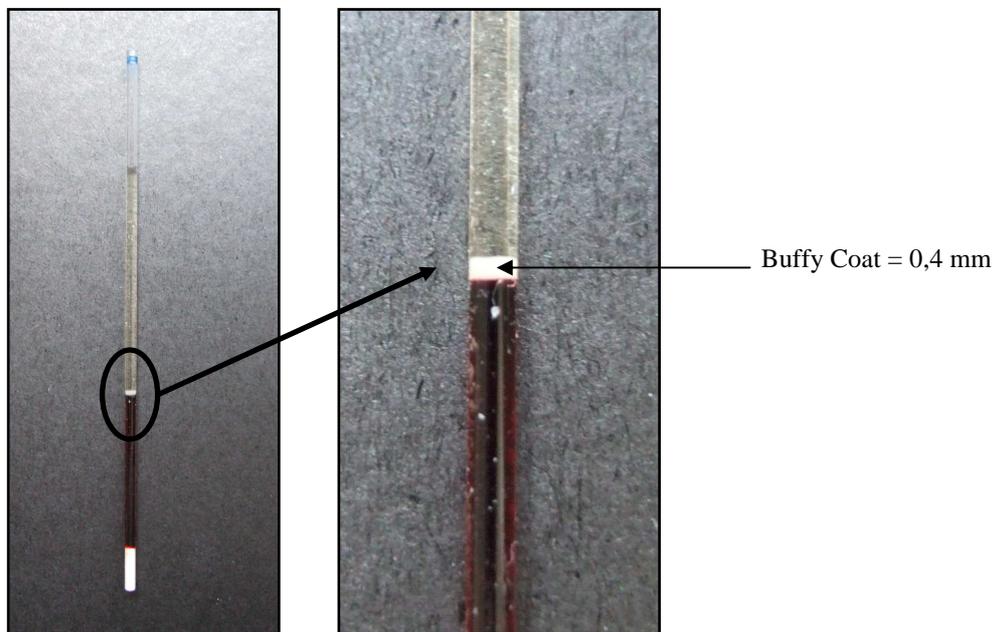
Tout d'abord, lors du scellement du tube à microhématocrite, l'interface gomme de scellement – sang doit être plane c'est-à-dire parfaitement perpendiculaire à la paroi du tube à microhématocrite. Cette interface est la base de toutes les mesures effectuées. Une interface imparfaitement plane entraîne des différences de lecture en fonction du positionnement du tube sur l'outil de mesure.

L'interface globules rouges/granulocytes n'est pas toujours évidente surtout lors de leucocytose. La couche des granulocytes rose peut être difficile à distinguer du culot érythrocytaire rouge [BROWN, 1988]. La couche des leucocytes légèrement rosée peut être difficile à distinguer des globules rouges. Une superposition des leucocytes avec des globules rouges à l'interface est possible lorsque ces derniers ont une densité inférieure à la normale comme par exemple lors d'anémie ferriprive.

L'interface plaquettes – plasma est habituellement facile à apprécier. La difficulté réside dans l'épaisseur du buffy coat difficile à quantifier avec les outils de mesure exploités dans notre étude. Des hauteurs de buffy coat inférieures au demi-millimètre sont possibles.



Photographie 7 : Epaisseur du buffy coat du prélèvement n° 58, leucocytose.



Photographie 8 : Epaisseur du buffy coat du prélèvement n° 62, leucopénie.

Enfin, l'interface plasma – tube à microhématocrite vide se présente parfois sous la forme d'un ménisque. La subtilité est dans la mesure à la base du ménisque. Notons que les tons de couleurs sont parfois très proches entre le plasma jaune très pâle et le tube vide transparent.

Après toutes ces considérations, il apparaît qu'il n'est pas anodin de lire et donc de mesurer des hauteurs sur un tube à microhématocrite [JAIN, 1986 ; VOIGT, 2000]. Les interfaces et les contrastes sont des obstacles à franchir et expliquant aisément les différences significatives des résultats entre les lecteurs. Ces observations devraient inciter le clinicien à pratiquer la lecture des leucocytes quotidiennement afin de gagner en précision. Ce type d'examen rapide pratiqué de façon occasionnelle ne sera pas une méthode précise ni sensible alors qu'il peut apporter de nombreuses informations orientant le clinicien dans son diagnostic.

### **III.1.5 Plaquettes**

Le buffy coat est constitué non seulement des leucocytes mais aussi des plaquettes sanguines. Deux couches peuvent se distinguer après microcentrifugation. Les plaquettes se regroupent dans une couche blanc nacré en partie supérieure du buffy coat bien visible par comparaison à la couche leucocytaire rosée dans des prélèvements en leucocytose. Cette couche plaquettaire, malgré une numération dans l'intervalle de référence, peut varier sensiblement en épaisseur et donc influencer la « lisibilité » de l'épaisseur du buffy coat. Par exemple, un prélèvement avec une leucopénie et une numération plaquettaire à  $117,9 \cdot 10^9/L$  aura une épaisseur de buffy coat bien moindre par rapport à un prélèvement avec une leucopénie similaire mais une numération plaquettaire à  $559,5 \cdot 10^9/L$ . Il apparaît donc qu'en cas de thrombocytose ou thrombopénie, les variations d'épaisseurs seront encore plus marquées et avons décidé de nous affranchir à minima de ce biais de lecture de l'épaisseur du buffy coat en limitant les « variations plaquettaires » et en sélectionnant les prélèvements sanguins pour lesquels la numération plaquettaire était dans l'IR. Malgré cela, il est important de souligner qu'en pratique, la numération plaquettaire doit être vérifiée au moins par une observation semi-quantitative au microscope. La méthode manuelle de numération plaquettaire sur frottis de sang coloré est la méthode la plus sensible et spécifique [TASKER, 2001 ; OLSEN, 2004].

## **III.2. Lecture**

### **III.2.1. Contraste**

Nous avons vu précédemment la difficulté de formation d'interfaces parfaitement planes avec la mise en place de la gomme de scellement et la difficulté d'identification des interfaces. Pour une lecture facilitée, le contraste semble avoir son importance. Les mesures de l'épaisseur du buffy coat se sont effectuées à l'aide de l'abaque, de papier millimétré Canson® à quadrillage orangé et de la réglette. Par sa couleur pâle, l'épaisseur du buffy coat semble se lire plus facilement sur la réglette de couleur grise que sur le papier millimétré à fond blanc.

### **III.2.2. Précision**

Des différences sensibles sont notées entre les lecteurs. Il est vrai que des méthodes de mesure aussi simplistes présentent l'inconvénient d'un manque de précision. En effet, la réglette précise au demi-millimètre laisse une incertitude au lecteur. Celui-ci extrapole alors sa mesure au dixième de millimètre « fictif » mais nécessaire. Cette problématique se transpose sur la mesure à l'aide du papier millimétré qui, comme son nom l'indique, est encore moins précis que la réglette. Nous pouvons expliquer la meilleure reproductibilité de la méthode de lecture utilisant l'abaque par sa conversion directe en pourcentage avec une précision au 0,5% (positionnement du sommet de la gomme de scellement sur le 0 et le sommet du plasma sur 100). En effet, la hauteur totale du prélèvement dans le tube à microhématocrite influence la précision de lecture. Un tube à trois-quarts plein présente, une fois posé sur l'abaque, des graduations davantage rapprochées en comparaison à un tube entièrement plein. Plus un tube est faiblement rempli plus la lecture paraît difficile avec une perte d'extrapolation au 0,1% près.

### **III.2.3. Agrégats**

La présence d'agrégats plaquettaires et leucocytaires est à vérifier. Les agrégats constituent un véritable biais de notre étude.

La présence d'agrégats plaquettaires modifie la numération plaquettaire mesurée par le Sysmex. Ils entraînent une sous estimation de la numération plaquettaire [KOPLITZ, 2001 ; NORMAN, 2001]. Dans un souci de validité de notre méthode de diagnostic rapide des

leucocytoses et leucopénies, il faut s'assurer que le prélèvement analysé présente une numération plaquettaire dans l'IR.

La présence d'agrégats leucocytaires entraîne une sous estimation de l'épaisseur du buffy coat. Pour cette raison, notre méthode ne paraît pas fiable en présence d'agrégats leucocytaires. Un des prélèvements (N°65) présentait des agrégats leucocytaires. Ce dernier a été classé, de façon erronée, dans les cas de leucopénies par l'automate XT-2000iV et par lecture du BC. Les agrégats leucocytaires n'ont pas été pris en compte par l'automate. Les agrégats n'apparaissent pas sur le graphique en nuage de points des GB du Sysmex XT-2000iV et donc ne permettaient pas de détecter une erreur de numération. Concernant la lecture du BC par nos trois méthodes, nous pouvons supposer que les agrégats sont tombés dans le culot de GR et n'ont pas été visualisés dans le BC.

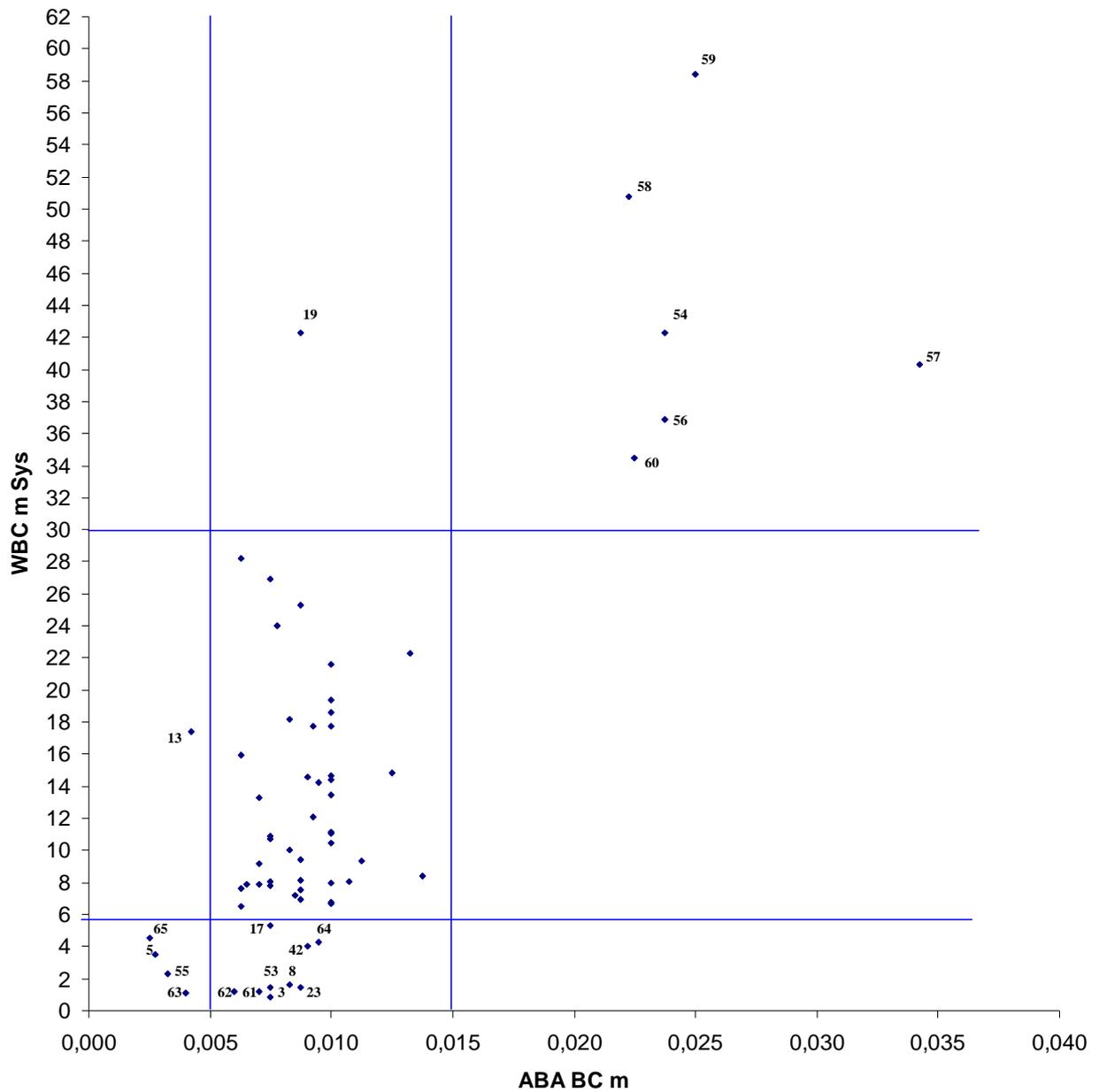
Le « prélèvement idéal » serait un prélèvement sans agrégat leucocytaire ni plaquettaire. Cependant, faute de n'obtenir que des prélèvements idéaux, il faut dans tous les cas vérifier l'absence d'agrégat par lecture du frottis réalisé concomitamment. Si des agrégats sont présents, il faudra en tenir compte et être critique vis-à-vis des résultats obtenus avec le tube Ht ou avec n'importe quel type d'automate d'hématologie.

### **III.3. Intérêt de la méthode semi-quantitative et application en cabinet vétérinaire**

Notre étude recherche l'éventuelle possibilité d'un diagnostic rapide de leucocytose et/ou de leucopénie par mesure de l'épaisseur du buffy coat. Nous avons vu précédemment que nos trois méthodes de mesure sont comparables. La transcription graphique des résultats est présentée dans la figure 8. Le leucocrite étant aux leucocytes et plaquettes associés ce qu'est l'hématocrite aux érythrocytes.

Les valeurs discriminantes de leucocytose et leucopénie (traits horizontaux gras) ont été fixées à  $5,6 \cdot 10^9/L$  pour la limite des leucopénies et  $30 \cdot 10^9/L$  pour la limite des leucocytoses. L'IR des GB a été validé par le laboratoire de Biologie Médicale de l'ENVT avec l'automate Sysmex XT-2000iV et est compris entre 5,6 et  $20,4 \cdot 10^9/L$ . En analysant les résultats par rapport à cet IR, il apparaît que la lecture du BC ne permet pas de discriminer les numérations qui sont dans l'IR des leucopénies ni des leucocytoses. Par contre, nous nous apercevons que dans des cas de leucocytoses marquées, supérieures à  $30 \cdot 10^9/L$ , la méthode apparaît discriminante. Par conséquent, dans un souci d'interprétation au quotidien par le praticien,

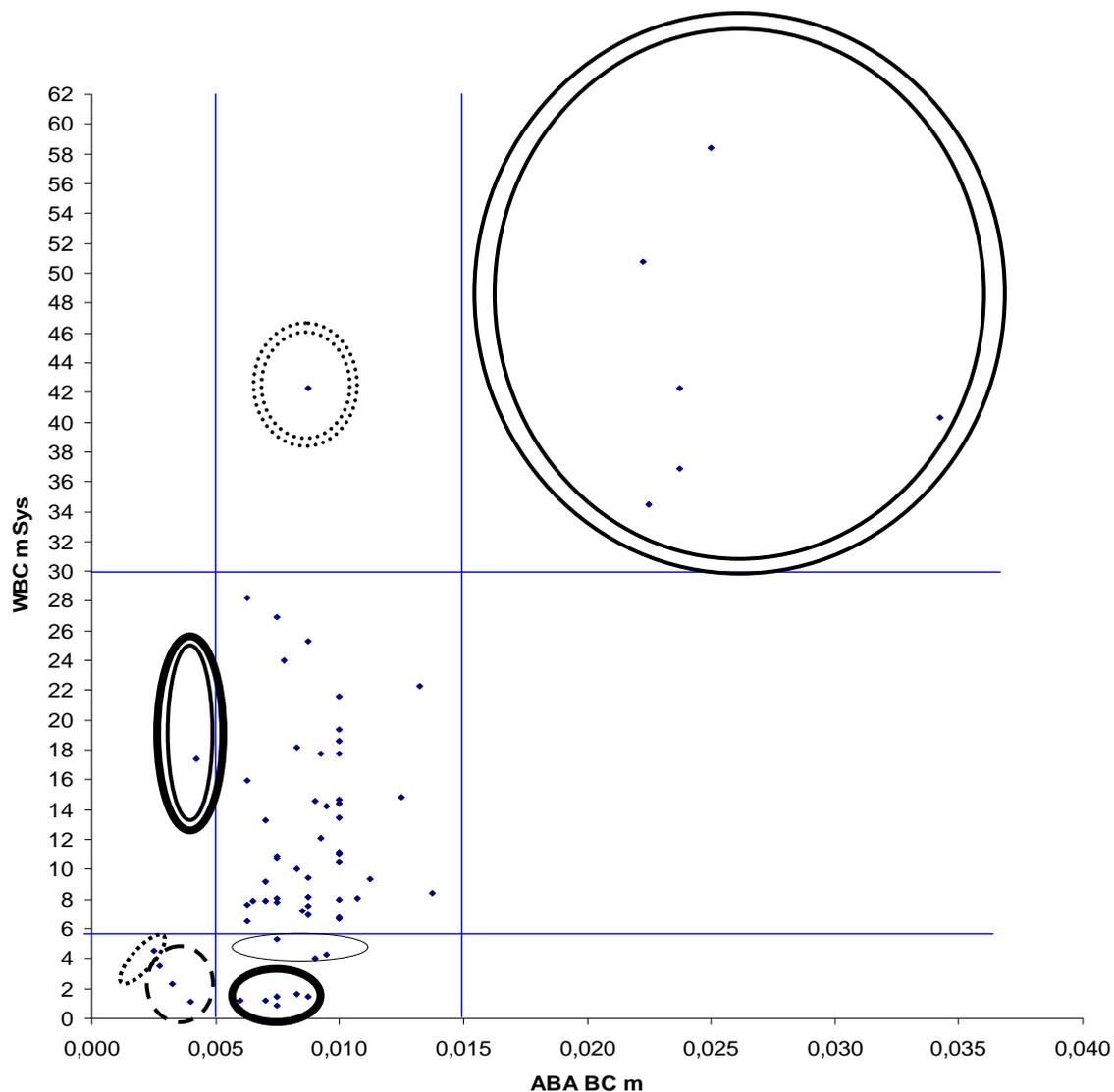
nous avons décidé de fixer une limite supérieure en vue de diagnostic de leucocytoses marquées supérieures à  $30 \cdot 10^9/L$ .



ABA BCm : moyenne des mesures du BC avec l'abaque (L/L)

WBCm Sys : moyenne des numérations leucocytaires effectuées avec le Sysmex XT-2000iV ( $10^9/L$ )

Figure 7 : Présentation des prélèvements (N° associé) en dehors de l'IR



ABA BCm : moyenne des mesures du BC avec l'abaque (L/L)

WBCm Sys : moyenne des numérations leucocytaires effectuées avec le Sysmex XT-2000iV ( $10^9/L$ )

-  Prélèvements en leucocytose marquée diagnostiquée
-  Prélèvement en leucocytose marquée non diagnostiquée
-  Prélèvements en leucopénie diagnostiquée
-  Prélèvements en leucopénie légère non diagnostiquée
-  Prélèvements en leucopénie non diagnostiquée
-  Prélèvement dans l'IR des GB diagnostiqué en leucopénie par la lecture du BC
-  Prélèvement diagnostiqué en leucopénie par le XT-2000iV et la lecture du BC avec présence d'agrégats GB

Figure 8 : Corrélations des résultats de numérations leucocytaires par l'automate XT-2000iV avec la lecture du BC selon la méthode de l'abaque pour les 65 prélèvements sanguins de chien.

La dispersion des résultats sur la figure 8 permet de distinguer plusieurs « familles » de prélèvements que nous allons étudier séparément.

### **III.3.1 Intérêt de la méthode semi-quantitative dans le diagnostic rapide des leucocytoses marquées**

Les prélèvements en leucocytoses marquées supérieures à  $30 \cdot 10^9/L$  présentent un leucocyte supérieur à 0,015 L/L (1.5%).

Un prélèvement (N°19) en leucocytose marquée n'a cependant pas été diagnostiqué. Son leucocyte est compris entre 0,005 L/L (0.5%) et 0,015 L/L (1.5%). Ce prélèvement a été réalisé sur un chien présentant une anémie ferriprive régénérative hypochrome. La densité des globules rouges de ce prélèvement est donc inférieure à la densité physiologique. A titre indicatif, chez l'homme, les globules rouges ont une densité de  $1,090 \text{ g/cm}^3$  tandis que le buffy coat présente une densité de  $1,055 \text{ g/cm}^3$  et le plasma :  $1,028 \text{ g/cm}^3$ . Cette densité anormale des globules rouges a donc inévitablement entraîné un mélange, aussi minime soit il, des globules rouges et blancs à l'interface buffy coat / culot érythrocytaire. Ce phénomène a pour conséquence de cacher une partie des leucocytes et ainsi de diminuer artificiellement notre mesure du buffy coat. Cette observation est, par ailleurs, visible sur le graphique en nuage de points des GB du Sysmex XT-2000iV qui montre un nuage de GR touchant celui des granulocytes neutrophiles. Par ailleurs, ce prélèvement présente une réticulocytose avec des réticulocytes hypochromes et de faible taille, ce qui a pu de surcroît modifier la lecture de l'épaisseur du buffy coat.

Sur nos sept prélèvements en leucocytose marquée, nous avons donc un prélèvement non diagnostiqué soit 14,3% d'erreurs dans le diagnostic rapide des leucocytoses marquées supérieures à  $30 \cdot 10^9/L$ .

La sensibilité de notre méthode de diagnostic rapide des leucocytoses marquées est son aptitude à identifier correctement (leucocyte supérieur à 0,015 L/L = 1.5%), les chiens dont les numérations leucocytaires sont supérieures à  $30 \cdot 10^9/L$ . Ainsi, sur nos sept prélèvements en leucocytose, six présentent un leucocyte supérieur à 0,015 L/L (1.5%). Notre méthode a donc, pour le diagnostic des leucocytoses marquées, une sensibilité satisfaisante de 6/7 soit 86%.

La spécificité de notre méthode de diagnostic rapide des leucocytoses marquées est son aptitude à identifier correctement (leucocyte inférieur à 0,015 L/L = 1.5%), les chiens dont les numérations leucocytaires sont inférieures à  $30 \cdot 10^9/L$ . Ainsi, à la vue de nos résultats, tous les prélèvements ayant une numération leucocytaire inférieure à  $30 \cdot 10^9/L$  ont un leucocyte

inférieur à 0,015 L/L (1.5%). Notre méthode a une spécificité très satisfaisante de 100% pour le diagnostic des leucocytoses marquées. En résumé, pour un prélèvement en leucocytose, nous avons une probabilité de 86% pour que notre prélèvement présente un leucocyte supérieur à 0,015 L/L (1.5%) et soit donc diagnostiqué par cette méthode de diagnostic rapide utilisable au quotidien par les praticiens. De plus, d'après notre étude, tous les prélèvements présentant un leucocyte supérieur à 0,015 L/L (1.5%) sont des prélèvements en leucocytose marquée. La valeur prédictive positive de notre méthode de diagnostic rapide des leucocytoses marquées est donc de 6/6 soit 100%. La valeur prédictive négative est de 58/59 soit 98% car sur les cinquante neuf prélèvements présentant un leucocyte inférieur à 0,015 L/L (1.5%), cinquante huit correspondent à des chiens ayant une numération leucocytaire inférieure à  $30.10^9/L$ . Nous en déduisons que notre méthode de diagnostic rapide aussi simpliste soit-elle reste acceptable dans le diagnostic des leucocytoses marquées. Remarquons tout de même, qu'un prélèvement présentant un leucocyte compris entre 0,005 L/L (0.5%) et 0,015 L/L (1.5%) ne signifie pas qu'il n'est pas en leucocytose.

### **III.3.2 Intérêt de la méthode semi-quantitative dans le diagnostic rapide des leucopénies**

Trois prélèvements (N°5, N°55, N°63) présentant une leucopénie inférieure à  $5,6. 10^9/L$  avaient dans notre étude un leucocyte inférieur à 0,005 L/L (0.5%).

Parmi les prélèvements en leucopénie non diagnostiquée c'est-à-dire avec un leucocyte compris entre 0,005 L/L (0.5%) et 0,015L/L (1.5%), deux populations peuvent être distinguées : les leucopénies légères (N°17, N°42, N°64) c'est-à-dire comprises entre 4 et  $5,6.10^9$  leucocytes /L, et les leucopénies marquées (N°62, N°61, N°53, N°3, N°8, N°23) inférieures à  $2.10^9$  leucocytes/L. Les leucopénies marquées présentaient une formule leucocytaire anormale avec soit la présence de lymphocytes réactionnels, de bands cells ou d'érythroblastes. Une formule leucocytaire anormale (Tableau 23) est synonyme de différences dans la proportion des différents types de leucocytes qui, par ailleurs, présentent chacun des densités et tailles différentes. Ceci a pour conséquence une modification de l'épaisseur du buffy coat. Deux prélèvements présentant une numération leucocytaire identique mais deux formules leucocytaires très différentes n'auront pas la même épaisseur de buffy coat. Par exemple, chez le chien, une modification de la formule leucocytaire avec une inversion de formule (nombre de lymphocytes supérieur au nombre de granulocytes

neutrophiles) diminue l'épaisseur du buffy coat par rapport à un prélèvement présentant une formule leucocytaire comprise dans l'IR. Ainsi, dans notre étude, six leucopénies marquées (N°62, N°61, N°53, N°3, N°8, N°23) n'ont pu être diagnostiquées parmi les douze cas de leucopénies vraies soit 50% d'erreurs dans le diagnostic rapide des leucopénies marquées.

Pour les leucopénies légères, avec une numération leucocytaire comprise entre 4 et 5,6.  $10^9/L$ , (N°42, N°64, N°17), la formule leucocytaire est respectée mais il a été observé sur le frottis des bands cells et/ou des lymphocytes réactionnels qui, comme nous l'avons expliqué précédemment, augmenteraient l'épaisseur du buffy coat.

Un prélèvement (N°13) présentant un leucocrite inférieur à 0,005 L/L (0.5%) pour une numération leucocytaire comprise dans l'IR est observé. Il correspond à une « fausse » leucopénie diagnostiquée. Ce prélèvement présente un taux de lymphocytes élevé (formule à 56%) correspondant à  $9,7 \cdot 10^9$  lymphocytes/L. Etant de petite taille, les lymphocytes semblent minimiser l'épaisseur du buffy coat avec pourtant une numération leucocytaire dans l'IR.

Un autre cas diagnostiqué improprement en leucopénie (N°65) est présent (leucocrite inférieur à 0,005 L/L = 0.5%). Il présentait par ailleurs une numération au Sysmex XT-2000iV de  $4,565 \cdot 10^9/L$  mais l'observation du frottis a permis de déceler de nombreux agrégats leucocytaires. Comme cela a déjà été discuté dans un paragraphe précédent, la présence d'agrégats est la cause d'erreurs d'estimation des numérations leucocytaires comme plaquettaires.

Notre méthode de diagnostic rapide des leucopénies par mesure de l'épaisseur du buffy coat apparaît donc nettement moins fiable que dans le diagnostic des leucocytoses.

La sensibilité de notre méthode de diagnostic rapide des leucopénies est son aptitude à identifier correctement par un leucocrite inférieur à 0,005 L/L (0.5%), les chiens dont les numérations leucocytaires sont inférieures à  $5,6 \cdot 10^9/L$ . Sur nos les prélèvements en leucopénie vraie, seuls trois sont identifiés (leucocrite inférieur à 0,005 L/L = 0.5%). Ainsi, notre méthode a, pour le diagnostic des leucopénies, une sensibilité de 3/12 soit 25%. Il faut donc rester très prudent quant au diagnostic rapide de leucopénies. De nombreuses leucopénies ont présenté un leucocrite compris entre 0,005 L/L (0.5%) et 0,015 L/L (1.5%) ce qui les classe dans l'IR. Ce phénomène s'expliquerait par la présence de formules leucocytaires anormales. De plus, lorsqu'un prélèvement présente un leucocrite inférieur à 0,005 L/L (0.5%), nous avons une probabilité de 60% que ce prélèvement présente une leucopénie vraie (valeur prédictive positive qui est de 3/5 soit 60%). Lorsque le leucocrite est supérieur à 0,005 L/L (0.5%), nous avons une probabilité de 85% que le prélèvement

présente une numération leucocytaire supérieure à  $5,6.10^9/L$  (valeur prédictive négative est de 51/60 soit 85%). Le dépistage des leucopénies par cette méthode ne semble pas possible en raison notamment de la difficulté à mesurer des épaisseurs de BC aussi faibles. Ceci souligne l'imprécision de cette méthode pour des mesures aussi fines qui sont fonction de l'acuité visuelle de chaque utilisateur.

GNN	$2,9 - 13,6.10^9/L$
GNE	$0,13 - 3,05.10^9/L$
GNB	rares
Lymphocytes	$1,14 - 5,28.10^9/L$
Monocytes	$0.35 - 1.56.10^9/L$

Tableau 23 : Formule leucocytaire chez le chien sain établie par le laboratoire de biologie médicale de l'ENVT avec le Sysmex XT-2000iV

### III.3.3. Application en cabinet vétérinaire

Notre méthode semi-quantitative de diagnostic rapide des leucocytoses marquées et des leucopénies est applicable en cabinet vétérinaire et surtout praticable au quotidien. Ceci est l'objectif de notre étude : rendre l'hématologie vétérinaire accessible à tous. Du matériel basique reste nécessaire :

- une micro centrifugeuse. Elle nous permet de préparer les microhématocrites nécessaires au diagnostic rapide des leucocytoses et leucopénies mais aussi à l'évaluation du plasma [STOCKHAM, 2008], la mesure de la protidémie : un indice précieux de l'inflammation et de la déshydratation. Le leucocrite est une approximation de numération leucocytaire et ne doit pas se substituer à une numération leucocytaire [BENJAMIN, 1978]. Il reste un outil d'orientation diagnostique.
- un réfractomètre pour la mesure de la protidémie après rupture du tube à microhématocrite et recueil du plasma [THRALL, 2004].
- des lames dégraissées et une lame rodée afin de réaliser un frottis sanguin obligatoire pour vérifier la validité des paramètres chiffrés de l'hémogramme obtenus par les automates d'hématologie [GUELFY, 1989].

- un kit de coloration rapide

- un microscope grâce auquel nous pouvons apprécier de façon semi-quantitative les numérations leucocytaire et plaquettaire [TASKER, 1999], identifier la présence d'agrégats, rechercher les parasites sanguins ou visualiser toutes les modifications cellulaires d'ordre quantitatif et qualitatif.

Il est donc raisonnable d'admettre que des méthodes simples, rapides, pratiques et sans manipulation complexe existent en hématologie. Elles permettent d'apporter un grand nombre d'informations au clinicien qui est alors orienté dans son diagnostic. Notre étude apporte au clinicien une méthode rapide supplémentaire en diagnostic hématologique de leucocytose marquée.

## Conclusion

Notre méthode de mesure du buffy-coat semble permettre une évaluation semi-quantitative rapide des cas de leucocytoses marquées. Tous les leucocrites supérieurs à 0.015 L/L (1.5%) correspondaient à des leucocytoses supérieures à  $30.10^9/L$ . Par contre, cette méthode n'est pas fiable dans le diagnostic des leucopénies. En effet, pour les leucocrites compris entre 0 et 1.5%, la leucopénie sera déterminée par observation du frottis sanguin qui permettra une évaluation semi-quantitative des numérations leucocytaire et plaquettaire avec observation d'éventuels agrégats cellulaires.

Bien que plus fiable dans la détection des leucocytoses, notre méthode de diagnostic rapide a le mérite de montrer au praticien vétérinaire qu'il peut avec un matériel simple et peu onéreux pratiquer des analyses hématologiques rapides, efficaces, l'orientant dans son diagnostic. A plus large échelle, le praticien peut au quotidien avoir accès facilement à de nombreuses informations hématologiques grâce au microhématocrite.

Notre étude comparative de la mesure de l'épaisseur du buffy coat avec les valeurs chiffrées de l'hémogramme chez le chien apporte donc au clinicien un outil diagnostique supplémentaire dans la recherche des leucocytoses marquées.

Feuille pour agréments

## ANNEXES

### **Index des tableaux :**

- 3 : Reproductibilité des numérations plaquettaires effectuées par l'automate-----	64
- 4 : Reproductibilité des numérations leucocytaires effectuées par l'automate-----	64
- 6 : Agrégats plaquettaires recherchés par lecture des frottis-----	65
- 7 : Microhématocrites lus à l'aide de l'abaque spécifique-----	66
- 8 : Résultats des mesures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(1)-----	67
- 9 : Résultats des mesures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(2)-----	68
- 10 : Résultats des mesures effectuées avec la règlette pour le Ht(1)-----	69
- 11 : Résultats des mesures effectuées avec la règlette pour le Ht(2)-----	70
- 13 : Agrégats leucocytaires recherchés par lecture des frottis-----	71
- 14 : Résultats des leucocrites calculés à partir de lectures effectuées avec l'abaque spécifique pour le Ht(1)-----	72
- 15 : Résultats des duplicates de leucocrites calculés à partir de lectures effectuées avec l'abaque spécifique pour le Ht(2)-----	73
- 16 : Résultats des leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(1)-----	74
- 17 : Résultats des duplicates de leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec le papier millimétré le Ht(2)-----	75
- 18 : Résultats des leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec la règlette pour le Ht(1)-----	76
- 19 : Résultats des duplicates de leucocrites calculés à partir des lectures effectuées avec la règlette pour le Ht(2)-----	77
- 20 : Résultats statistiques des mesures effectuées avec le papier millimétré-----	78
- 21 : Résultats statistiques des mesures effectuées avec la règlette-----	80
- 22 : Résultats statistiques des mesures effectuées avec l'abaque de lecture spécifique pour microhématocrite-----	82

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
PLT-Sys	Variable 1	Variable 2
Moyenne	290,2769231	291,48
Variance	8795,640865	9029
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,996029885	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-1,137905828	
P(T<=t) unilatéral	0,129700904	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,259401809	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Tableau 3 : Reproductibilité des numérations plaquettaires effectuées par l'automate

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
WBC Sys	Variable 1	Variable 2
Moyenne	14,31553846	14,268
Variance	153,889997	155,2218413
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,999601578	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	1,079625869	
P(T<=t) unilatéral	0,142180383	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,284360767	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Tableau 4 : Reproductibilité des numérations leucocytaires effectuées par l'automate

N°enregistrement du prélèvement sanguin	Frottis plaquettes (1) : 1=agrégats 2 = pas d'agrégat	Frottis plaquettes (2): 1=agrégats 2 = pas d'agrégat
1	2	2
2	1	1
3	2	2
4	2	2
5	2	2
6	2	2
7	2	2
8	2	2
9	2	2
10	2	2
11	2	2
12	2	2
13	2	2
14	1	1
15	2	2
16	1	1
17	2	2
18	2	2
19	2	2
20	2	2
21	2	2
22	1	1
23	1	1
24	2	2
25	2	2
26	2	2
27	2	2
28	2	2
29	2	2
30	1	1
31	2	2
32	2	2
33	2	2
34	2	2
35	1	1
36	1	1
37	2	2
38	1	1
39	2	2
40	2	2
41	2	2
42	2	2
43	2	2
44	2	2
45	2	2
46	1	1
47	2	2
48	1	1
49	2	2
50	1	1
51	2	2
52	2	2
53	2	2
54	2	2
55	2	2
56	2	2
57	2	2
58	2	2
59	2	2
60	2	2
61	2	2
62	1	1
63	2	2
64	2	2
65	2	2

Tableau 6 : Agrégats plaquettaires recherchés par lecture des frottis

N°enregistrement du prélèvement sanguin	ABA Ht (1)	ABA Ht (1)	Moyenne ABA Ht(1)	ABA Ht (2)	ABA Ht (2)	Moyenne ABA Ht(2)
1	0,3	0,3	0,30	0,3	0,305	0,30
2	0,47	0,475	0,47	0,465	0,47	0,47
3	0,41	0,415	0,41	0,41	0,415	0,41
4	0,44	0,43	0,44	0,43	0,43	0,43
5	0,2	0,2	0,20	0,19	0,19	0,19
6	0,47	0,471	0,47	0,47	0,475	0,47
7	0,41	0,42	0,42	0,41	0,41	0,41
8	0,42	0,42	0,42	0,42	0,421	0,42
9	0,44	0,44	0,44	0,445	0,435	0,44
10	0,43	0,435	0,43	0,44	0,435	0,44
11	0,48	0,485	0,48	0,48	0,48	0,48
12	0,532	0,53	0,53	0,53	0,525	0,53
13	0,37	0,375	0,37	0,375	0,37	0,37
14	0,38	0,38	0,38	0,385	0,385	0,39
15	0,48	0,49	0,49	0,48	0,48	0,48
16	0,54	0,54	0,54	0,54	0,53	0,54
17	0,435	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
18	0,35	0,355	0,35	0,35	0,355	0,35
19	0,18	0,185	0,18	0,18	0,18	0,18
20	0,432	0,44	0,44	0,445	0,445	0,45
21	0,335	0,325	0,33	0,33	0,32	0,33
22	0,43	0,43	0,43	0,42	0,425	0,42
23	0,39	0,39	0,39	0,38	0,385	0,38
24	0,475	0,475	0,48	0,475	0,47	0,47
25	0,49	0,49	0,49	0,49	0,495	0,49
26	0,41	0,41	0,41	0,41	0,415	0,41
27	0,48	0,47	0,48	0,49	0,49	0,49
28	0,48	0,48	0,48	0,485	0,485	0,49
29	0,46	0,455	0,46	0,45	0,45	0,45
30	0,525	0,525	0,53	0,52	0,52	0,52
31	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
32	0,48	0,485	0,48	0,48	0,48	0,48
33	0,43	0,44	0,44	0,43	0,43	0,43
34	0,42	0,43	0,43	0,422	0,435	0,43
35	0,48	0,482	0,48	0,48	0,48	0,48
36	0,432	0,439	0,44	0,43	0,434	0,43
37	0,54	0,54	0,54	0,54	0,535	0,54
38	0,422	0,43	0,43	0,42	0,42	0,42
39	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
40	0,47	0,465	0,47	0,47	0,465	0,47
41	0,46	0,455	0,46	0,455	0,45	0,45
42	0,215	0,203	0,21	0,205	0,202	0,20
43	0,4	0,4	0,40	0,4	0,4	0,40
44	0,53	0,52	0,53	0,525	0,525	0,53
45	0,42	0,41	0,42	0,42	0,41	0,42
46	0,405	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,465	0,47
48	0,63	0,63	0,63	0,63	0,625	0,63
49	0,4	0,395	0,40	0,4	0,395	0,40
50	0,48	0,485	0,48	0,48	0,481	0,48
51	0,485	0,489	0,49	0,48	0,481	0,48
52	0,46	0,455	0,46	0,455	0,457	0,46
53	0,41	0,41	0,41	0,41	0,405	0,41
54	0,275	0,275	0,28	0,28	0,27	0,28
55	0,405	0,4	0,40	0,405	0,4	0,40
56	0,38	0,385	0,38	0,38	0,39	0,39
57	0,12	0,12	0,12	0,125	0,12	0,12
58	0,33	0,331	0,33	0,33	0,331	0,33
59	0,34	0,335	0,34	0,33	0,335	0,33
60	0,47	0,475	0,47	0,47	0,475	0,47
61	0,405	0,402	0,40	0,405	0,401	0,40
62	0,335	0,335	0,34	0,33	0,335	0,33
63	0,367	0,3625	0,36	0,367	0,37	0,37
64	0,39	0,39	0,39	0,39	0,385	0,39
65	0,47	0,468	0,47	0,47	0,468	0,47

Tableau 7 : Microhématocrites lus à l'aide de l'abaque spécifique

- **ABA Ht(1)** : microhématocrite lu à l'aide de l'abaque spécifique sur le tube à microhématocrite n°1
- **ABA Ht(2)** : microhématocrite lu à l'aide de l'abaque spécifique sur le tube à microhématocrite n°2
- **Moyenne ABA Ht(1)** : moyenne des microhématocrites lus à l'aide de l'abaque spécifique sur les tubes à microhématocrite n°1
- **Moyenne ABA Ht(2)** : moyenne des microhématocrites lus à l'aide de l'abaque spécifique sur les tubes à microhématocrite n°2

N°enregistrement du prélèvement sanguin	MIL Ht (1) : hauteur culot GR (mm)	MIL Ht (1) : hauteur culot GR (mm)	Moyenne MIL Ht (1) : hauteur culot GR (mm)	MIL Ht (1) : hauteur sommet du plasma (mm)	MIL Ht (1) : hauteur sommet du plasma (mm)	Moyenne MIL Ht (1) : hauteur sommet du plasma (mm)	MIL Ht(1) : rapport
1	20,5	19,8	20,15	67	65,8	66,40	0,303
2	29,8	29,8	29,80	63,5	63	63,25	0,471
3	27	26,9	26,95	65	64,8	64,90	0,415
4	28	28	28,00	64,5	64	64,25	0,436
5	13	13,1	13,05	66	66	66,00	0,198
6	30	30	30,00	64	63,3	63,65	0,471
7	26,5	26,5	26,50	64,5	62,9	63,70	0,416
8	26,8	26,4	26,60	63	62,8	62,90	0,423
9	28	28	28,00	64	63	63,50	0,441
10	27,5	27,7	27,60	63	62,9	62,95	0,438
11	30,8	30,7	30,75	63,5	63,5	63,50	0,484
12	35	35	35,00	65,5	65,9	65,70	0,533
13	23,9	23,8	23,85	64	64	64,00	0,373
14	23,8	24,2	24,00	63	63,4	63,20	0,380
15	31	31,4	31,20	64	64	64,00	0,488
16	35	35	35,00	65	65	65,00	0,538
17	25	25	25,00	57	57	57,00	0,439
18	22	22	22,00	63	63	63,00	0,349
19	11	11	11,00	61	61	61,00	0,180
20	26,5	26,5	26,50	60	60,5	60,25	0,440
21	20	20	20,00	61,5	61	61,25	0,327
22	26	26	26,00	60,5	60,5	60,50	0,430
23	24	24	24,00	61	61	61,00	0,393
24	30	30	30,00	63	63	63,00	0,476
25	31,5	31,5	31,50	64	64	64,00	0,492
26	23,5	23,7	23,60	57	57	57,00	0,414
27	29,5	29,5	29,50	62	61,5	61,75	0,478
28	29	29,5	29,25	60	60	60,00	0,488
29	29,5	29	29,25	64	64	64,00	0,457
30	34,5	34	34,25	65,5	65	65,25	0,525
31	28	28,5	28,25	62,8	63	62,90	0,449
32	27,5	27,8	27,65	57	57,4	57,20	0,483
33	26,5	27	26,75	61,5	62	61,75	0,433
34	26,5	26,8	26,65	63	62,9	62,95	0,423
35	31,5	31,2	31,35	65	64,3	64,65	0,485
36	26	26	26,00	59	59,1	59,05	0,440
37	32,5	33,5	33,00	60	60	60,00	0,550
38	26,5	26,5	26,50	62	62	62,00	0,427
39	23,5	23,5	23,50	60,5	60,5	60,50	0,388
40	27,5	28	27,75	58,5	58,5	58,50	0,474
41	28	28,5	28,25	61,5	61	61,25	0,461
42	12,8	12,5	12,65	61	61	61,00	0,207
43	24,5	24,2	24,35	61	60,5	60,75	0,401
44	33,5	33,5	33,50	63,5	63,5	63,50	0,528
45	26,5	26	26,25	63	62,5	62,75	0,418
46	25	25,5	25,25	61,5	61	61,25	0,412
47	29	29,5	29,25	62,5	62	62,25	0,470
48	37	37	37,00	59	58	58,50	0,632
49	25,5	25,5	25,50	64	63,8	63,90	0,399
50	30,5	30,5	30,50	63	62,2	62,60	0,487
51	31	31,5	31,25	64	64	64,00	0,488
52	28,5	28,1	28,30	61,5	61,3	61,40	0,461
53	25	25	25,00	61	61	61,00	0,410
54	17	17	17,00	61	60,8	60,90	0,279
55	25	25	25,00	62,5	62,8	62,65	0,399
56	24,5	24,5	24,50	63	63	63,00	0,389
57	7,5	7	7,25	62,5	62	62,25	0,116
58	20,5	20,5	20,50	61	61,1	61,05	0,336
59	20,5	20,5	20,50	60,5	60,5	60,50	0,339
60	31	31	31,00	65	65,5	65,25	0,475
61	26	25,5	25,75	63	63,1	63,05	0,408
62	21	20,8	20,90	62	61,9	61,95	0,337
63	23,7	23,8	23,75	64	64	64,00	0,371
64	25,5	26	25,75	65,5	66	65,75	0,392
65	30	30	30,00	64,3	64	64,15	0,468

Tableau 8 : Résultats des mesures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(1)

- **MIL Ht 1 (hautGR) = MIL Ht(1) : hauteur culot GR** : hauteur des globules rouges compactés mesurée à l'aide du papier millimétré sur le tube à microhématocrite n°1

- **MIL Ht 1 (hplasma) = MIL Ht(1) : hauteur sommet du plasma** : hauteur au sommet du plasma mesurée à l'aide du papier millimétré sur le tube à microhématocrite n°1

- **Moyenne MIL Ht(1) : hauteur culot GR** : moyenne des hauteurs de globules rouges compactés mesurées à l'aide du papier millimétré sur les tubes à microhématocrite n°1

- **Moyenne MIL Ht(1) : hauteur sommet du plasma** : moyenne des hauteurs au sommet du plasma mesurées à l'aide du papier millimétré sur les tubes à microhématocrite n°1

- **MIL Ht(1) : rapport** : rapport de la moyenne MIL Ht(1) : hauteur culot GR / moyenne MIL Ht(1) : hauteur sommet du plasma

N°enregistrement du prélèvement sanguin	MIL Ht (2) : hauteur culot GR (mm)	MIL Ht (2) : hauteur culot GR (mm)	Moyenne MIL Ht (2) : hauteur culot GR (mm)	MIL Ht (2) : hauteur sommet du plasma (mm)	MIL Ht (2) : hauteur sommet du plasma (mm)	Moyenne MIL Ht (2) : hauteur sommet du plasma (mm)	MIL Ht(2) : rapport
1	20	20	20,00	66	66,8	66,40	0,301
2	29,5	29,8	29,65	63	62,5	62,75	0,473
3	23,5	23,9	23,70	57	57	57,00	0,416
4	23	23	23,00	53	53	53,00	0,434
5	10,8	10,7	10,75	55	54,4	54,70	0,197
6	26,5	26,5	26,50	56	56	56,00	0,473
7	23	23,1	23,05	56	56,1	56,05	0,411
8	21	21	21,00	50	49,9	49,95	0,420
9	24	24,5	24,25	55	55	55,00	0,441
10	24	24,1	24,05	55	55	55,00	0,437
11	26	26,2	26,10	55	54,2	54,60	0,478
12	29,8	29,8	29,80	56	56	56,00	0,532
13	22	21,9	21,95	59,5	59,1	59,30	0,370
14	22	21,8	21,90	56,5	56,7	56,60	0,387
15	27	28	27,50	57	57	57,00	0,482
16	26,5	26	26,25	48	48	48,00	0,547
17	21	21	21,00	48,5	48,5	48,50	0,433
18	19	19	19,00	54	54	54,00	0,352
19	9,8	10	9,90	53,5	53,8	53,65	0,185
20	26	26	26,00	58,5	58,3	58,40	0,445
21	19	18,7	18,85	57	57	57,00	0,331
22	24	24	24,00	55,5	55,5	55,50	0,432
23	20,5	20,5	20,50	52	52	52,00	0,394
24	27,5	27,5	27,50	57,5	57,8	57,65	0,477
25	27,5	27,7	27,60	56	56,5	56,25	0,491
26	22,5	22,5	22,50	54,5	54,5	54,50	0,413
27	25,5	25,5	25,50	51	51	51,00	0,500
28	25	25,5	25,25	52	52	52,00	0,486
29	22	22,5	22,25	48,5	49	48,75	0,456
30	29	28,8	28,90	55	55	55,00	0,525
31	23,5	23,5	23,50	52,5	53	52,75	0,445
32	24,5	24,2	24,35	51	50,5	50,75	0,480
33	20,5	20,5	20,50	48	47,5	47,75	0,429
34	22,5	22,8	22,65	53	52,9	52,95	0,428
35	25,2	25,2	25,20	52	52,1	52,05	0,484
36	23	23	23,00	53	53	53,00	0,434
37	30,5	30,5	30,50	56	56	56,00	0,545
38	21,5	22,5	22,00	50,5	51	50,75	0,433
39	19	19,5	19,25	50	50	50,00	0,385
40	24	24	24,00	51	50,5	50,75	0,473
41	24	24	24,00	52,5	52	52,25	0,459
42	11	11	11,00	53	52,5	52,75	0,209
43	22	22,1	22,05	55	55,1	55,05	0,401
44	33,5	33	33,25	63	62,5	62,75	0,530
45	24	24	24,00	58	58	58,00	0,414
46	21	21	21,00	51	51	51,00	0,412
47	24,5	24,5	24,50	52	52	52,00	0,471
48	36	36	36,00	57	57	57,00	0,632
49	21	21,2	21,10	53,5	53,5	53,50	0,394
50	25	25	25,00	52	51,2	51,60	0,484
51	25	25,2	25,10	51,5	51,9	51,70	0,485
52	26,5	26,5	26,50	58	58,1	58,05	0,457
53	23	23	23,00	56	56	56,00	0,411
54	16	15,8	15,90	56	56,5	56,25	0,283
55	22	22	22,00	55	55	55,00	0,400
56	22,5	22,5	22,50	57,5	57,7	57,60	0,391
57	6,8	6,5	6,65	53	52,5	52,75	0,126
58	18,5	18,8	18,65	56	56,1	56,05	0,333
59	19	19	19,00	56	56	56,00	0,339
60	26,5	27,5	27,00	57	57,5	57,25	0,472
61	21,5	21,7	21,60	53	53,1	53,05	0,407
62	19,2	19,7	19,45	57,9	58	57,95	0,336
63	20	20,7	20,35	54,5	54,5	54,50	0,373
64	22,5	22,5	22,50	58	58	58,00	0,388
65	27	27	27,00	57,9	57,8	57,85	0,467

Tableau 9 : Résultats des mesures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(2)

- **MIL Ht 2 (hautGR) = MIL Ht(2) : hauteur culot GR** : hauteur des globules rouges compactés mesurée à l'aide du papier millimétré sur le tube à microhématocrite n°2

- **MIL Ht 2 (hplasma) = MIL Ht(2) : hauteur sommet du plasma** : hauteur au sommet du plasma mesurée à l'aide du papier millimétré sur le tube à microhématocrite n°2

- **Moyenne MIL Ht(2) : hauteur culot GR** : moyenne des hauteurs de globules rouges compactés mesurées à l'aide du papier millimétré sur les tubes à microhématocrite n°2

- **Moyenne MIL Ht(2) : hauteur sommet du plasma** : moyenne des hauteurs au sommet du plasma mesurées à l'aide du papier millimétré sur les tubes à microhématocrite n°2

- **MIL Ht(2) : rapport** : rapport de la moyenne MIL Ht(2) : hauteur culot GR / moyenne MIL Ht(2) : hauteur sommet du plasma

N°enregistrement du prélèvement sanguin	REG Ht (1) : hauteur culot GR (mm)	REG Ht (1) : hauteur culot GR (mm)	Moyenne REG Ht (1) : hauteur culot GR (mm)	REG Ht (1) : hauteur sommet du plasma (mm)	REG Ht (1) : hauteur sommet du plasma (mm)	Moyenne REG Ht (1) : hauteur sommet du plasma (mm)	REG Ht(1) : rapport
1	20,5	20	20,25	67	66	66,50	0,305
2	29,5	30	29,75	63	63	63,00	0,472
3	27	26,9	26,95	63	64,2	63,60	0,424
4	28	28	28,00	64,5	64,5	64,50	0,434
5	13,3	13,2	13,25	66,5	66	66,25	0,200
6	30,5	30	30,25	64	63,2	63,60	0,476
7	26,5	26,5	26,50	65	62,9	63,95	0,414
8	27	26,8	26,90	63	63	63,00	0,427
9	28	28,1	28,05	64	63,2	63,60	0,441
10	27,8	27,5	27,65	63	62,7	62,85	0,440
11	30,5	31,1	30,80	64	63,5	63,75	0,483
12	35	35	35,00	66	66	66,00	0,530
13	24	23,8	23,90	64,5	63,5	64,00	0,373
14	24	23,9	23,95	63,5	63,2	63,35	0,378
15	31,5	31,2	31,35	64	64	64,00	0,490
16	35,5	35,5	35,50	65,5	65	65,25	0,544
17	25	25,2	25,10	57	57,5	57,25	0,438
18	22,5	22,5	22,50	63	63	63,00	0,357
19	11	11,5	11,25	61	62	61,50	0,183
20	26,5	26,5	26,50	60	60,5	60,25	0,440
21	20	20,5	20,25	61	61,5	61,25	0,331
22	26	26,5	26,25	60,5	60,5	60,50	0,434
23	23,5	24	23,75	61	61	61,00	0,389
24	30,5	30,2	30,35	63,5	64	63,75	0,476
25	31	31,7	31,35	63,5	64	63,75	0,492
26	23,5	24	23,75	57,5	57,5	57,50	0,413
27	29,5	29,5	29,50	61,5	61,5	61,50	0,480
28	29,5	29,5	29,50	60,5	60,5	60,50	0,488
29	29,5	29,5	29,50	64,5	64,2	64,35	0,458
30	34,5	34	34,25	65,5	65	65,25	0,525
31	28,5	28,5	28,50	63	63	63,00	0,452
32	28	28	28,00	58	57,8	57,90	0,484
33	27	26,5	26,75	62	62	62,00	0,431
34	26,5	26,7	26,60	62,5	62,9	62,70	0,424
35	31,5	31,5	31,50	65	64,6	64,80	0,486
36	26	26	26,00	59	59	59,00	0,441
37	32,5	32,5	32,50	60	60	60,00	0,542
38	26,5	26,5	26,50	62	62	62,00	0,427
39	23	23,5	23,25	60	60,5	60,25	0,386
40	27,5	27,5	27,50	58,5	58	58,25	0,472
41	28,5	28,5	28,50	61,5	61	61,25	0,465
42	12,5	12,9	12,70	61	61	61,00	0,208
43	24,5	24,5	24,50	61	60,5	60,75	0,403
44	33,5	34	33,75	63,5	64	63,75	0,529
45	26,5	26	26,25	63	62	62,50	0,420
46	25	25,5	25,25	61,5	61	61,25	0,412
47	29,2	29,5	29,35	62,5	62,5	62,50	0,470
48	37,5	37	37,25	59,5	58,5	59,00	0,631
49	25,5	25,5	25,50	64	64	64,00	0,398
50	30,5	30,5	30,50	63	62,1	62,55	0,488
51	31,2	31,6	31,40	64,5	64	64,25	0,489
52	28,5	28,4	28,45	61,5	61,7	61,60	0,462
53	25	25	25,00	61	61	61,00	0,410
54	17	17,2	17,10	60,5	61	60,75	0,281
55	25	25,2	25,10	62,5	63	62,75	0,400
56	24,5	24,5	24,50	63	63	63,00	0,389
57	7,5	7	7,25	62	62	62,00	0,117
58	20,5	20,8	20,65	61,5	61,3	61,40	0,336
59	20,5	21	20,75	60,5	61	60,75	0,342
60	31	31,5	31,25	65	65,5	65,25	0,479
61	26	25,6	25,80	63,5	63,1	63,30	0,408
62	21	21	21,00	62	61,9	61,95	0,339
63	23	24,1	23,55	63,5	64,5	64,00	0,368
64	26	25,75	25,88	66	65,5	65,75	0,394
65	30,7	30,5	30,60	64,6	64	64,30	0,476

Tableau 10 : Résultats de mesures effectuées avec la règlette pour le Ht(1)

- **REG Ht 1 (hautGR) = REG Ht(1) : hauteur culot GR** : hauteur des globules rouges compactés mesurée à l'aide de la règlette sur le tube à microhématocrite n°1

- **REG Ht 1 (hplasma) = REG Ht(1) : hauteur sommet du plasma** : hauteur au sommet du plasma mesurée à l'aide de la règlette sur le tube à microhématocrite n°1

- **Moyenne REG Ht(1) : hauteur culot GR** : moyenne des hauteurs de globules rouges compactés mesurées à l'aide de la règlette sur les tubes à microhématocrite n°1

- **Moyenne REG Ht(1) : hauteur sommet du plasma** : moyenne des hauteurs au sommet du plasma mesurées à l'aide de la règlette sur les tubes à microhématocrite n°1-

- **REG Ht(1) : rapport** : rapport de la moyenne REG Ht(1) : hauteur culot GR / moyenne REG Ht(1) : hauteur sommet du plasma

N°enregistrement du prélèvement sanguin	REG Ht (2) : hauteur culot GR (mm)	REG Ht (2) : hauteur culot GR (mm)	Moyenne REG Ht (2) : hauteur culot GR (mm)	REG Ht (2) : hauteur sommet du plasma (mm)	REG Ht (2) : hauteur sommet du plasma (mm)	Moyenne REG Ht (2) : hauteur sommet du plasma (mm)	REG Ht (2) : rapport
1	20	20	20,00	66	66,2	66,10	0,303
2	29,5	30	29,75	63	63	63,00	0,472
3	23,5	24	23,75	57	57	57,00	0,417
4	23	23,5	23,25	53,5	53,5	53,50	0,435
5	10,5	10,8	10,65	55	54,5	54,75	0,195
6	27	26,8	26,90	56,5	56,1	56,30	0,478
7	23,5	23,1	23,30	56,5	56	56,25	0,414
8	21	21,1	21,05	50,5	49,9	50,20	0,419
9	24	24,1	24,05	54,5	54,5	54,50	0,441
10	24	24,2	24,10	55	55	55,00	0,438
11	26,5	26,5	26,50	54,5	54,3	54,40	0,487
12	30	30	30,00	56,5	56,1	56,30	0,533
13	22	21,9	21,95	59,5	59,1	59,30	0,370
14	22	21,5	21,75	57	56,5	56,75	0,383
15	27,8	27,5	27,65	57	57	57,00	0,485
16	26,5	26	26,25	48	48	48,00	0,547
17	21	21	21,00	48,5	48,5	48,50	0,433
18	19,5	19,25	19,38	54,5	54,5	54,50	0,356
19	10	10,5	10,25	54	54	54,00	0,190
20	26	26	26,00	58,5	58,5	58,50	0,444
21	19	19	19,00	57	57	57,00	0,333
22	24	24	24,00	55,5	55,5	55,50	0,432
23	20,5	20,5	20,50	52	52	52,00	0,394
24	27,5	27,7	27,60	57,5	57,5	57,50	0,480
25	27,5	27,5	27,50	56,5	56	56,25	0,489
26	22,5	22,5	22,50	54	54,5	54,25	0,415
27	25,5	26	25,75	51,5	52	51,75	0,498
28	25,5	25,5	25,50	52,5	52	52,25	0,488
29	22,5	22,2	22,35	49	49	49,00	0,456
30	29	28,8	28,90	55	55	55,00	0,525
31	24	23,5	23,75	53	52,5	52,75	0,450
32	24,5	24,5	24,50	51	50,8	50,90	0,481
33	21	20,5	20,75	48	47,5	47,75	0,435
34	22,5	22,9	22,70	53	53,1	53,05	0,428
35	25,2	25,3	25,25	52,2	52,3	52,25	0,483
36	23	23,1	23,05	53	53	53,00	0,435
37	30	30,5	30,25	56	56	56,00	0,540
38	21,5	21,5	21,50	50,8	51	50,90	0,422
39	19,5	19	19,25	50	49,5	49,75	0,387
40	24	24	24,00	51	50,5	50,75	0,473
41	24	24	24,00	52,5	52	52,25	0,459
42	11	11,1	11,05	53	52,8	52,90	0,209
43	22	22,2	22,10	55	55,2	55,10	0,401
44	33	33,5	33,25	62,5	63	62,75	0,530
45	24,5	24,5	24,50	58	58,5	58,25	0,421
46	21	21	21,00	51,5	51	51,25	0,410
47	24,5	24,5	24,50	52	52	52,00	0,471
48	36,5	36	36,25	58	57	57,50	0,630
49	21	21,2	21,10	53	53	53,00	0,398
50	25	25	25,00	51,5	51,3	51,40	0,486
51	25	25,3	25,15	52	51,9	51,95	0,484
52	26,5	26,9	26,70	58	58,2	58,10	0,460
53	23	23	23,00	56	56	56,00	0,411
54	16	16	16,00	56,5	56	56,25	0,284
55	22	22,5	22,25	55	55,6	55,30	0,402
56	22,5	22,5	22,50	57,5	57,7	57,60	0,391
57	6,5	7	6,75	53	52,5	52,75	0,128
58	19	18,9	18,95	56,5	56,2	56,35	0,336
59	19	19,5	19,25	56	56,5	56,25	0,342
60	27	27,7	27,35	57	58	57,50	0,476
61	22	21,7	21,85	54	53,2	53,60	0,408
62	19,5	19,5	19,50	58	58	58,00	0,336
63	20	20,5	20,25	54,5	54,9	54,70	0,370
64	23	22,75	22,88	59	58,5	58,75	0,389
65	27,6	27,5	27,55	57,8	58	57,90	0,476

Tableau 11 : Résultats de mesures effectuées avec la réglette pour le Ht(2)

- **REG Ht 2 (hautGR) = REG Ht(2) : hauteur culot GR** : hauteur des globules rouges compactés mesurée à l'aide de la réglette sur le tube à microhématocrite n°2

- **REG Ht 2 (hplasma) = REG Ht(2) : hauteur sommet du plasma** : hauteur au sommet du plasma mesurée à l'aide de la réglette sur le tube à microhématocrite n°2

- **Moyenne REG Ht(2) : hauteur culot GR** : moyenne des hauteurs de globules rouges compactés mesurées à l'aide de la réglette sur les tubes à microhématocrite n°2

- **Moyenne REG Ht(2) : hauteur sommet du plasma** : moyenne des hauteurs au sommet du plasma mesurées à l'aide de la réglette sur les tubes à microhématocrite n°2

- **REG Ht(2) : rapport** : rapport de la moyenne REG Ht(2) : hauteur culot GR / moyenne REG Ht(2) : hauteur sommet du plasma

N°enregistrement du prélèvement sanguin	Frottis leucocytes : 1=agrégats 2 = pas d'agrégat	Frottis leucocytes : 1=agrégats 2 = pas d'agrégat
1	2	2
2	2	2
3	2	2
4	2	2
5	2	2
6	2	2
7	2	2
8	2	2
9	2	2
10	2	2
11	2	2
12	2	2
13	2	2
14	2	2
15	2	2
16	2	2
17	2	2
18	2	2
19	2	2
20	2	2
21	2	2
22	2	2
23	2	2
24	2	2
25	2	2
26	2	2
27	2	2
28	2	2
29	2	2
30	2	2
31	2	2
32	2	2
33	2	2
34	2	2
35	2	2
36	2	2
37	2	2
38	2	2
39	2	2
40	2	2
41	2	2
42	2	2
43	2	2
44	2	2
45	2	2
46	2	2
47	2	2
48	2	2
49	2	2
50	2	2
51	2	2
52	2	2
53	2	2
54	2	2
55	2	2
56	2	2
57	2	2
58	2	2
59	2	2
60	2	2
61	2	2
62	2	2
63	2	2
64	2	2
65	1	1

Tableau 13 : Agrégats leucocytaires recherchés par lecture des frottis

N°enregistrement du prélèvement sanguin	ABA BC (1) : valeur sommet de BC (mm)	ABA BC (1) : valeur sommet de BC (mm)	Moyenne : ABA BC (1) : valeur sommet de BC (mm)	ABA BC(1) : [valeur sommet de BC ABA BC(1) - ABA Ht (1)]
1	0,31	0,305	0,31	0,008
2	0,48	0,48	0,48	0,008
3	0,42	0,42	0,42	0,008
4	0,45	0,44	0,45	0,010
5	0,203	0,202	0,20	0,003
6	0,48	0,48	0,48	0,010
7	0,42	0,43	0,43	0,010
8	0,43	0,425	0,43	0,008
9	0,45	0,45	0,45	0,010
10	0,44	0,44	0,44	0,008
11	0,49	0,489	0,49	0,007
12	0,54	0,54	0,54	0,009
13	0,375	0,38	0,38	0,005
14	0,385	0,389	0,39	0,007
15	0,49	0,5	0,50	0,010
16	0,55	0,55	0,55	0,010
17	0,44	0,44	0,44	0,008
18	0,36	0,365	0,36	0,010
19	0,19	0,19	0,19	0,008
20	0,445	0,45	0,45	0,012
21	0,34	0,33	0,34	0,005
22	0,44	0,44	0,44	0,010
23	0,4	0,4	0,40	0,010
24	0,49	0,482	0,49	0,011
25	0,495	0,5	0,50	0,008
26	0,42	0,42	0,42	0,010
27	0,49	0,48	0,49	0,010
28	0,485	0,49	0,49	0,008
29	0,47	0,465	0,47	0,010
30	0,535	0,535	0,54	0,010
31	0,45	0,45	0,45	0,010
32	0,485	0,495	0,49	0,008
33	0,435	0,448	0,44	0,007
34	0,43	0,44	0,44	0,010
35	0,488	0,491	0,49	0,009
36	0,44	0,448	0,44	0,009
37	0,55	0,55	0,55	0,010
38	0,43	0,435	0,43	0,007
39	0,39	0,39	0,39	0,010
40	0,48	0,475	0,48	0,010
41	0,465	0,465	0,47	0,008
42	0,225	0,211	0,22	0,009
43	0,41	0,41	0,41	0,010
44	0,54	0,53	0,54	0,010
45	0,43	0,42	0,43	0,010
46	0,415	0,42	0,42	0,010
47	0,48	0,48	0,48	0,010
48	0,635	0,64	0,64	0,007
49	0,41	0,405	0,41	0,010
50	0,49	0,5	0,50	0,013
51	0,5	0,501	0,50	0,014
52	0,47	0,462	0,47	0,008
53	0,42	0,415	0,42	0,008
54	0,3	0,3	0,30	0,025
55	0,41	0,402	0,41	0,004
56	0,41	0,405	0,41	0,025
57	0,152	0,15	0,15	0,031
58	0,35	0,355	0,35	0,022
59	0,36	0,36	0,36	0,023
60	0,49	0,5	0,50	0,023
61	0,41	0,411	0,41	0,007
62	0,34	0,342	0,34	0,006
63	0,37	0,3675	0,37	0,004
64	0,4	0,4	0,40	0,010
65	0,472	0,47	0,47	0,002

Tableau 14 : Résultats des leucocytes calculés à partir de lectures effectuées avec l'abaque spécifique pour le Ht(1)

- **ABA BC 1 = ABA BC(1) : valeur sommet de BC** : hauteur des GR compactés + buffy coat mesurée à l'aide de l'abaque spécifique sur le tube à microhématocrite n°1

- **Moyenne ABA BC(1) : valeur sommet de BC** : moyenne des hauteurs de GR compactés + buffy coat mesurées à l'aide de l'abaque spécifique sur les tubes à microhématocrite n°1

- **ABA BC(1)** : leucocyte calculé à partir des mesures effectuées à l'aide de l'abaque spécifique sur le tube à microhématocrite n°1

N°enregistrement du prélèvement sanguin	ABA BC (2) : valeur sommet de BC (mm)	ABA BC (2) : valeur sommet de BC (mm)	Moyenne : ABA BC (2) : valeur sommet de BC (mm)	ABA BC(2) : [valeur sommet de BC ABA BC (2) - ABA Ht (2)]	Moyenne : ABA BC
1	0,31	0,305	0,31	0,005	0,006
2	0,47	0,48	0,48	0,007	0,007
3	0,42	0,42	0,42	0,008	0,008
4	0,44	0,44	0,44	0,010	0,010
5	0,195	0,191	0,19	0,003	0,003
6	0,48	0,482	0,48	0,009	0,009
7	0,42	0,42	0,42	0,010	0,010
8	0,43	0,429	0,43	0,009	0,008
9	0,45	0,44	0,45	0,005	0,008
10	0,45	0,445	0,45	0,010	0,009
11	0,49	0,487	0,49	0,009	0,008
12	0,535	0,53	0,53	0,005	0,007
13	0,38	0,372	0,38	0,004	0,004
14	0,39	0,392	0,39	0,006	0,007
15	0,49	0,5	0,50	0,015	0,013
16	0,55	0,54	0,55	0,010	0,010
17	0,44	0,435	0,44	0,008	0,008
18	0,36	0,365	0,36	0,010	0,010
19	0,19	0,19	0,19	0,010	0,009
20	0,455	0,455	0,46	0,010	0,011
21	0,34	0,325	0,33	0,008	0,006
22	0,43	0,435	0,43	0,010	0,010
23	0,39	0,39	0,39	0,008	0,009
24	0,485	0,475	0,48	0,008	0,009
25	0,498	0,5	0,50	0,007	0,007
26	0,418	0,42	0,42	0,007	0,008
27	0,5	0,5	0,50	0,010	0,010
28	0,49	0,49	0,49	0,005	0,006
29	0,46	0,46	0,46	0,010	0,010
30	0,525	0,53	0,53	0,008	0,009
31	0,45	0,45	0,45	0,010	0,010
32	0,485	0,49	0,49	0,008	0,008
33	0,44	0,44	0,44	0,010	0,008
34	0,43	0,445	0,44	0,009	0,010
35	0,49	0,49	0,49	0,010	0,009
36	0,44	0,441	0,44	0,009	0,009
37	0,55	0,54	0,55	0,007	0,009
38	0,43	0,425	0,43	0,008	0,007
39	0,39	0,39	0,39	0,010	0,010
40	0,48	0,47	0,48	0,007	0,009
41	0,46	0,46	0,46	0,008	0,008
42	0,215	0,21	0,21	0,009	0,009
43	0,41	0,41	0,41	0,010	0,010
44	0,53	0,53	0,53	0,005	0,008
45	0,43	0,42	0,43	0,010	0,010
46	0,42	0,425	0,42	0,013	0,011
47	0,48	0,475	0,48	0,010	0,010
48	0,635	0,63	0,63	0,005	0,006
49	0,41	0,405	0,41	0,010	0,010
50	0,49	0,499	0,49	0,014	0,013
51	0,49	0,499	0,49	0,014	0,014
52	0,465	0,465	0,47	0,009	0,009
53	0,42	0,41	0,42	0,008	0,008
54	0,305	0,29	0,30	0,023	0,024
55	0,41	0,401	0,41	0,003	0,003
56	0,405	0,41	0,41	0,023	0,024
57	0,16	0,16	0,16	0,038	0,034
58	0,35	0,356	0,35	0,023	0,022
59	0,36	0,36	0,36	0,028	0,025
60	0,49	0,5	0,50	0,023	0,023
61	0,41	0,41	0,41	0,007	0,007
62	0,337	0,34	0,34	0,006	0,006
63	0,37	0,375	0,37	0,004	0,004
64	0,398	0,395	0,40	0,009	0,010
65	0,475	0,469	0,47	0,003	0,003

Tableau 15 : Résultats des duplicates des leucocrites calculés à partir de lectures effectuées avec l'abaque spécifique pour le Ht(2)

- **ABA BC 2 = ABA BC(2) : valeur sommet de BC** : hauteur des GR compactés + buffy coat mesurée à l'aide de l'abaque spécifique sur le tube à microhématocrite n°2
- **Moyenne ABA BC(2) : valeur sommet de BC** : moyenne des hauteurs de GR compactés + buffy coat mesurées à l'aide de l'abaque spécifique sur les tubes à microhématocrite n°2
- **ABA BC(2)** : leucocrite calculé à partir des mesures effectuées à l'aide de l'abaque spécifique sur le tube à microhématocrite n°2
- **ABA BC = ABA BCm = moyenne ABA BC** : moyenne des leucocrites calculés à partir des mesures effectuées à l'aide de l'abaque spécifique

N°enregistrement du prélèvement sanguin	MIL BC (1) : hauteur sommet de BC (mm)	MIL BC (1) : hauteur sommet de BC (mm)	Moyenne : MIL BC (1) : hauteur sommet de BC (mm)	MIL BC (1) : [hauteur sommet BC MIL BC(1) - hauteur culot GR MIL Ht (1)] / hauteur sommet plasma MIL Ht (1)
1	21	20,5	20,75	0,009
2	30	30	30,00	0,003
3	27,5	27	27,25	0,005
4	28,5	29	28,75	0,012
5	13,2	13,4	13,30	0,004
6	31	30,5	30,75	0,012
7	27	27,1	27,05	0,009
8	27	26,9	26,95	0,006
9	28,5	28,8	28,65	0,010
10	28	28,2	28,10	0,008
11	31	31,1	31,05	0,005
12	35,5	35,5	35,50	0,008
13	24,2	24	24,10	0,004
14	24,1	24,8	24,45	0,007
15	31,8	32,2	32,00	0,013
16	35,5	36	35,75	0,012
17	25,3	25,5	25,40	0,007
18	22,8	22,9	22,85	0,013
19	11,2	11,5	11,35	0,006
20	27	27,2	27,10	0,010
21	20,5	20,5	20,50	0,008
22	26,5	26,8	26,65	0,011
23	24,2	24,5	24,35	0,006
24	31	31	31,00	0,016
25	32	31,9	31,95	0,007
26	24	24	24,00	0,007
27	30	30	30,00	0,008
28	29,5	30	29,75	0,008
29	30	29,8	29,90	0,010
30	35	34,7	34,85	0,009
31	28,5	29	28,75	0,008
32	28	28,1	28,05	0,007
33	27	27,8	27,40	0,011
34	27	27,2	27,10	0,007
35	32	31,6	31,80	0,007
36	26,5	26,5	26,50	0,008
37	33	34	33,50	0,008
38	27	27	27,00	0,008
39	24	24	24,00	0,008
40	28	28,5	28,25	0,009
41	28,2	29	28,60	0,006
42	13	13	13,00	0,006
43	25	24,6	24,80	0,007
44	34,5	34	34,25	0,012
45	27	27	27,00	0,012
46	25,5	26	25,75	0,008
47	29,8	30	29,90	0,010
48	37,5	37,5	37,50	0,009
49	26	26	26,00	0,008
50	31	31,8	31,40	0,014
51	31,8	32,3	32,05	0,013
52	29	28,5	28,75	0,007
53	25,5	25,5	25,50	0,008
54	18,5	18,3	18,40	0,023
55	25,5	25,2	25,35	0,006
56	26	25,5	25,75	0,020
57	10	9,5	9,75	0,040
58	22	21,7	21,85	0,022
59	22	22	22,00	0,025
60	32,5	32,5	32,50	0,023
61	26,5	26,1	26,30	0,009
62	21,2	21,1	21,15	0,004
63	24	24	24,00	0,004
64	26	26,5	26,25	0,008
65	30,2	30,5	30,35	0,005

Tableau 16 : Résultats des leucocytes calculés à partir des lectures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(1)

- **MIL BC 1 = MIL BC(1) : hauteur sommet de BC** : hauteur des GR compactés + buffy coat mesurée à l'aide du papier millimétré sur le tube à microhématocrite n°1
- **Moyenne MIL BC(1) : hauteur sommet de BC** : moyenne des hauteurs de GR compactés + buffy coat mesurées à l'aide du papier millimétré sur les tubes à microhématocrite n°1
- **MIL BC(1)** : leucocyte calculé à partir des mesures effectuées à l'aide du papier millimétré sur le tube à microhématocrite n°1

N°enregistrement du prélèvement sanguin	MIL BC (2) : hauteur sommet de BC (mm)	MIL BC (2) : hauteur sommet de BC (mm)	Moyenne : MIL BC (2) : hauteur sommet BC (mm)	MIL BC (2) : [hauteur sommet BC MIL BC(2) - hauteur culot GR MIL Ht (2)] / hauteur sommet plasma MIL Ht(2)	Moyenne : MIL BC
1	20,5	20,2	20,35	0,005	0,007
2	30	30	30,00	0,006	0,004
3	24	24	24,00	0,005	0,005
4	23,5	23,5	23,50	0,009	0,011
5	11	10,9	10,95	0,004	0,004
6	27	27	27,00	0,009	0,010
7	23,5	23,9	23,70	0,012	0,010
8	21,5	21,1	21,30	0,006	0,006
9	24,2	25	24,60	0,006	0,008
10	24,5	24,8	24,65	0,011	0,009
11	26,5	26,7	26,60	0,009	0,007
12	30	30	30,00	0,004	0,006
13	22,5	22	22,25	0,005	0,004
14	22,5	22,1	22,30	0,007	0,007
15	27,5	29	28,25	0,013	0,013
16	27	26,5	26,75	0,010	0,011
17	21,5	21,5	21,50	0,010	0,009
18	19,8	19,8	19,80	0,015	0,014
19	10	10,5	10,25	0,007	0,006
20	26,8	26,8	26,80	0,014	0,012
21	19,5	19	19,25	0,007	0,008
22	24,5	24,5	24,50	0,009	0,010
23	21	21	21,00	0,010	0,008
24	28	28	28,00	0,009	0,012
25	28	28	28,00	0,007	0,007
26	23	23	23,00	0,009	0,008
27	26	26	26,00	0,010	0,009
28	25,5	26	25,75	0,010	0,009
29	22,5	23	22,75	0,010	0,010
30	29,5	29,2	29,35	0,008	0,009
31	24	24	24,00	0,009	0,009
32	25	24,8	24,90	0,011	0,009
33	21	20,9	20,95	0,009	0,010
34	23	23	23,00	0,007	0,007
35	25,8	25,8	25,80	0,012	0,009
36	23,5	23,6	23,55	0,010	0,009
37	31	31	31,00	0,009	0,009
38	22	23	22,50	0,010	0,009
39	19,5	20	19,75	0,010	0,009
40	24,5	24,5	24,50	0,010	0,009
41	24,2	24,5	24,35	0,007	0,006
42	11,2	11,2	11,20	0,004	0,005
43	22,5	22,8	22,65	0,011	0,009
44	34	33,5	33,75	0,008	0,010
45	24,5	25	24,75	0,013	0,012
46	21,5	21,5	21,50	0,010	0,009
47	25	25,5	25,25	0,014	0,012
48	36,5	36,5	36,50	0,009	0,009
49	21,8	21,8	21,80	0,013	0,010
50	25,5	25,9	25,70	0,014	0,014
51	25,5	26	25,75	0,013	0,013
52	27	27	27,00	0,009	0,008
53	23,5	23,5	23,50	0,009	0,009
54	17,5	17	17,25	0,024	0,023
55	22,5	22,1	22,30	0,005	0,006
56	23,8	23,5	23,65	0,020	0,020
57	8,5	8,5	8,50	0,035	0,038
58	20	19,9	19,95	0,023	0,023
59	20	20,5	20,25	0,022	0,024
60	28	28,9	28,45	0,025	0,024
61	22	22	22,00	0,008	0,008
62	19,7	20	19,85	0,007	0,005
63	20,2	20,9	20,55	0,004	0,004
64	23	23	23,00	0,009	0,008
65	27,1	27,5	27,30	0,005	0,005

Tableau 17 : Résultats des duplicates de leucocytes calculés à partir des lectures effectuées avec le papier millimétré pour le Ht(2)

- MIL BC 2 = MIL BC(2) : hauteur sommet de BC : hauteur des GR compactés + buffy coat mesurée à l'aide du papier millimétré sur le tube à microhématocrite n°2
- Moyenne MIL BC(2) : hauteur sommet de BC : moyenne des hauteurs de GR compactés + buffy coat mesurées à l'aide du papier millimétré sur les tubes à microhématocrite n°2
- MIL BC(2) : leucocyte calculé à partir des mesures effectuées à l'aide du papier millimétré sur le tube à microhématocrite n°2
- MIL BC = MIL BCm = moyenne MIL BC : moyenne des leucocytes calculés à partir des mesures effectuées à l'aide du papier millimétré

N°enregistrement du prélèvement sanguin	REG BC (1) : hauteur sommet de BC (mm)	REG BC (1) : hauteur sommet de BC (mm)	Moyenne : REG BC (1) : hauteur sommet BC (mm)	REG BC (1) : [hauteur sommet BC REG BC(1) - hauteur culot GR REG Ht (1)] / hauteur sommet plasma REG Ht (1)
1	21	20,1	20,55	0,005
2	30	30,2	30,10	0,006
3	27,5	27,1	27,30	0,006
4	28,5	29	28,75	0,012
5	13,5	13,4	13,45	0,003
6	31	30,6	30,80	0,009
7	27	27,1	27,05	0,009
8	27,5	27,1	27,30	0,006
9	28,5	29	28,75	0,011
10	28	28,2	28,10	0,007
11	31	31,6	31,30	0,008
12	35,8	35,5	35,65	0,010
13	24,5	24	24,25	0,005
14	24,5	24,2	24,35	0,006
15	32	32	32,00	0,010
16	36	36	36,00	0,008
17	25,5	25,5	25,50	0,007
18	23	23	23,00	0,008
19	11,5	12	11,75	0,008
20	27,5	27	27,25	0,012
21	20,5	20,7	20,60	0,006
22	26,5	27	26,75	0,008
23	24	24,5	24,25	0,008
24	31,5	31,2	31,35	0,016
25	31,5	32,3	31,90	0,009
26	24	24,5	24,25	0,009
27	30,5	30	30,25	0,012
28	30	30	30,00	0,008
29	30	30	30,00	0,008
30	35	34,5	34,75	0,008
31	29	29	29,00	0,008
32	28,5	28,4	28,45	0,008
33	27,5	27,5	27,50	0,012
34	27	27,3	27,15	0,009
35	32	32	32,00	0,008
36	26,5	26,5	26,50	0,008
37	33	33	33,00	0,008
38	27	27	27,00	0,008
39	23,5	24	23,75	0,008
40	28	28	28,00	0,009
41	28,9	29	28,95	0,007
42	13	13,2	13,10	0,007
43	25	25,1	25,05	0,009
44	34	34,5	34,25	0,008
45	27	26,5	26,75	0,008
46	25,5	26	25,75	0,008
47	30	30	30,00	0,010
48	38	37,5	37,75	0,008
49	26	26	26,00	0,008
50	31	31,2	31,10	0,010
51	32	32,2	32,10	0,011
52	29	28,8	28,90	0,007
53	25,5	25,5	25,50	0,008
54	18,5	18,8	18,65	0,026
55	25,5	25,5	25,50	0,006
56	26	25,7	25,85	0,021
57	10	9,5	9,75	0,040
58	22	21,9	21,95	0,021
59	22	22,5	22,25	0,025
60	32,5	32,8	32,65	0,021
61	26,5	26,1	26,30	0,008
62	21,4	21,3	21,35	0,006
63	23,5	24,5	24,00	0,007
64	26,5	26,25	26,38	0,008
65	30,9	31	30,95	0,005

Tableau 18 : Résultats des leucocytes calculés à partir des lectures effectuées avec la réglette pour le Ht(1)

- **REG BC 1 = REG BC(1) : hauteur sommet de BC** : hauteur des GR compactés + buffy coat mesurée à l'aide de la réglette sur le tube à microhématocrite n°1
- **Moyenne REG BC(1) : hauteur sommet de BC** : moyenne des hauteurs de GR compactés + buffy coat mesurées à l'aide de la réglette sur les tubes à microhématocrite n°1
- **REG BC(1)** : leucocyte calculé à partir des mesures effectuées à l'aide de la réglette sur le tube à microhématocrite n°1

N°enregistrement du prélèvement sanguin	REG BC (2) : hauteur sommet BC (mm)	REG BC (2) : hauteur sommet de BC (mm)	Moyenne : REG BC (2) : hauteur sommet BC (mm)	REG BC (2) : [hauteur sommet BC REG BC(2) - hauteur culot GR REG Ht (2)] / hauteur sommet plasma REG Ht(2)	Moyenne : REG BC
1	20,5	20,2	20,35	0,005	0,005
2	30	30,2	30,10	0,006	0,006
3	24	24,5	24,25	0,009	0,007
4	23,5	23,8	23,65	0,007	0,010
5	11	10,9	10,95	0,005	0,004
6	27,5	27,1	27,30	0,007	0,008
7	24	23,9	23,95	0,012	0,010
8	21,5	21,2	21,35	0,006	0,006
9	24,5	24,7	24,60	0,010	0,011
10	24,2	24,9	24,55	0,008	0,008
11	27	26,8	26,90	0,007	0,008
12	30,5	30,2	30,35	0,006	0,008
13	22,5	22,2	22,35	0,007	0,006
14	22,5	21,9	22,20	0,008	0,007
15	28	28,5	28,25	0,011	0,010
16	27	26,5	26,75	0,010	0,009
17	21,5	21,5	21,50	0,010	0,009
18	20	19,75	19,88	0,009	0,009
19	10,5	11	10,75	0,009	0,009
20	26,8	26,8	26,80	0,014	0,013
21	19,2	19,5	19,35	0,006	0,006
22	24,5	24,5	24,50	0,009	0,009
23	21	21	21,00	0,010	0,009
24	28,5	28,2	28,35	0,013	0,014
25	28	28	28,00	0,009	0,009
26	23	23	23,00	0,009	0,009
27	26	26,5	26,25	0,010	0,011
28	26	26	26,00	0,010	0,009
29	23	22,7	22,85	0,010	0,009
30	29,5	29,2	29,35	0,008	0,008
31	24,5	24	24,25	0,009	0,009
32	24,8	25	24,90	0,008	0,008
33	21,5	20,9	21,20	0,009	0,011
34	23	23,4	23,20	0,009	0,009
35	25,8	25,9	25,85	0,011	0,010
36	23,5	23,6	23,55	0,009	0,009
37	30,5	31	30,75	0,009	0,009
38	22	22	22,00	0,010	0,009
39	20	19,5	19,75	0,010	0,009
40	24,5	24,5	24,50	0,010	0,009
41	24,5	24,5	24,50	0,010	0,008
42	11,2	11,4	11,30	0,005	0,006
43	22,5	22,8	22,65	0,010	0,010
44	33,5	34	33,75	0,008	0,008
45	25	25	25,00	0,009	0,008
46	21,5	22	21,75	0,015	0,011
47	25	25,5	25,25	0,014	0,012
48	37	36,5	36,75	0,009	0,009
49	21,5	21,7	21,60	0,009	0,009
50	25,5	26	25,75	0,015	0,012
51	25,5	26,1	25,80	0,013	0,012
52	27	27,2	27,10	0,007	0,007
53	23,5	23,5	23,50	0,009	0,009
54	17,5	17	17,25	0,022	0,024
55	22,2	22,7	22,45	0,004	0,005
56	24	23,5	23,75	0,022	0,022
57	8,5	8,5	8,50	0,033	0,037
58	20,5	20,1	20,30	0,024	0,023
59	20,5	21	20,75	0,027	0,026
60	28,5	28,9	28,70	0,023	0,022
61	22,5	22,1	22,30	0,008	0,008
62	20	20	20,00	0,009	0,007
63	20,3	20,8	20,55	0,005	0,006
64	23,5	23,25	23,38	0,009	0,008
65	27,7	28	27,85	0,005	0,005

Tableau 19 : Résultats des duplicates de leucocytes calculés à partir des lectures effectuées avec la réglette pour le Ht(2)

- **REG BC 2 = REG BC(2) : hauteur sommet de BC** : hauteur des GR compactés + buffy coat mesurée à l'aide de la réglette sur le tube à microhématocrite n°2
- **Moyenne REG Ht(2) : hauteur sommet du plasma** : moyenne des hauteurs au sommet du plasma mesurées à l'aide de la réglette sur les tubes à microhématocrite n°2
- **REG BC(2)** : leucocyte calculé à partir des mesures effectuées à l'aide de la réglette sur le tube à microhématocrite n°2
- **REG BC = REG BCm = moyenne REG BC** : moyenne des leucocytes calculés à partir des mesures effectuées à l'aide de la réglette

Test d'égalité des espérances: observations paires		
MIL Ht 1 (hautGR)	Variable 1	Variable 2
Moyenne	26,20923077	26,24153846
Variance	30,71960096	31,52621635
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,998531993	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-0,83807464	
P(T<=t) unilatéral	0,202553932	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,405107864	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations paires		
MIL Ht 1 (hplasma)	Variable 1	Variable 2
Moyenne	62,44769231	62,29230769
Variance	4,764096154	4,549158654
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,982208349	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	3,055175257	
P(T<=t) unilatéral	0,001638817	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,003277634	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations paires		
MIL Ht 2 (hautGR)	Variable 1	Variable 2
Moyenne	22,90923077	23,00615385
Variance	24,48835096	24,61277404
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,998176813	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-2,609403217	
P(T<=t) unilatéral	0,005640031	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,011280062	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations paires		
MIL Ht 2 (hplasma)	Variable 1	Variable 2
Moyenne	54,65846154	54,64
Variance	12,15996635	12,47025
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,995969596	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	0,467842035	
P(T<=t) unilatéral	0,32074341	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,641486819	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
MIL m GR/plasma		
	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,420535025	0,420432238
Variance	0,007828545	0,007694382
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,99874951	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	0,185346539	
P(T<=t) unilatéral	0,426771693	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,853543386	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
MIL BC 1		
	Variable 1	Variable 2
Moyenne	26,8	26,8784615
Variance	29,856875	30,5664038
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,997857874	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-1,73071013	
P(T<=t) unilatéral	0,044161312	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,088322625	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
MIL BC 2		
	Variable 1	Variable 2
Moyenne	23,4707692	23,5707692
Variance	23,888351	24,093351
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,99691547	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-2,09259346	
P(T<=t) unilatéral	0,02017788	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,66901303	
P(T<=t) bilatéral	0,04035577	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,99772963	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
MIL BC		
	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,009843856	0,01032973
Variance	3,63244E-05	3,1387E-05
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,914210964	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-1,60271463	
P(T<=t) unilatéral	0,056961072	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,113922144	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Tableau 20 : Résultats statistiques des mesures effectuées avec le papier millimétré

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
REG Ht 1 (hautGR)	Variable 1	Variable 2
Moyenne	26,28769231	26,35153846
Variance	31,44172115	30,9946851
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,99811926	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-1,492018051	
P(T<=t) unilatéral	0,070303787	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,140607574	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
REG Ht 1 (plasma)	Variable 1	Variable 2
Moyenne	62,50153846	62,39230769
Variance	4,756403846	4,290096154
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,967339006	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	1,589136059	
P(T<=t) unilatéral	0,058478999	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,116957999	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
REG Ht 2 (hautGR)	Variable 1	Variable 2
Moyenne	23,03230769	23,08461538
Variance	24,80034615	24,47546274
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,998139066	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-1,384596006	
P(T<=t) unilatéral	0,08549224	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,170984479	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
REG Ht 2 (hplasma)	Variable 1	Variable 2
Moyenne	54,79692308	54,70615385
Variance	11,96311538	12,56808654
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,994739174	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	1,980921437	
P(T<=t) unilatéral	0,025950386	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,051900773	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
REGm GR/Plasma	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,421454571	0,421441855
Variance	0,00776399	0,007642462
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,998923188	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	0,0248143	
P(T<=t) unilatéral	0,490140147	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,980280294	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
REG BC 1	Variable 1	Variable 2
Moyenne	26,91538462	26,943846
Variance	30,20163462	30,04168
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,997747082	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-0,62237086	
P(T<=t) unilatéral	0,267954611	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,535909222	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
REG BC 2	Variable 1	Variable 2
Moyenne	23,61076923	23,6461538
Variance	23,94785096	24,0985397
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,997330532	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-0,7958473	
P(T<=t) unilatéral	0,214531413	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,429062826	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations pairées		
REG BC	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,009786603	0,010435783
Variance	3,45277E-05	2,91223E-05
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,926038771	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-2,3594693	
P(T<=t) unilatéral	0,010681704	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,021363407	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Tableau 21 : Résultats statistiques des mesures effectuées avec la réglette

Test d'égalité des espérances: observations paires		
ABA Ht 1		
	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,41830769	0,418576923
Variance	0,0076349	0,007709838
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,99820394	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-0,41210351	
P(T<=t) unilatéral	0,34082032	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,66901303	
P(T<=t) bilatéral	0,68164064	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,99772963	

Test d'égalité des espérances: observations paires		
ABA Ht 2		
	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,417523077	0,417015385
Variance	0,007705691	0,00768889
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,998514432	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	0,855736788	
P(T<=t) unilatéral	0,197667934	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,395335869	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations paires		
ABA Ht		
	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,418442308	0,417269231
Variance	0,007665435	0,007691571
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,998894851	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	2,294222241	
P(T<=t) unilatéral	0,012534619	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,025069238	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations paires		
ABA BC 1		
	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,428384615	0,428469231
Variance	0,007357365	0,007556452
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,997817752	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	-0,11721628	
P(T<=t) unilatéral	0,453527872	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,907055744	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations paires		
ABA BC 2		
	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,427553846	0,426584615
Variance	0,007300813	0,007417278
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,997426081	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	1,261949641	
P(T<=t) unilatéral	0,105773295	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,21154659	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Test d'égalité des espérances: observations paires		
ABA BC	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,009984615	0,0098
Variance	2,77419E-05	3,56547E-05
Observations	65	65
Coefficient de corrélation de Pearson	0,934406509	
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	64	
Statistique t	0,692351702	
P(T<=t) unilatéral	0,245610492	
Valeur critique de t (unilatéral)	1,669013026	
P(T<=t) bilatéral	0,491220984	
Valeur critique de t (bilatéral)	1,997729633	

Tableau 22 : Résultats statistiques des mesures effectuées avec l'abaque de lecture spécifique pour microhématocrite

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**BENJAMIN MM.**

Packed cell volume (Hematocrit).

*Outline of veterinary clinical pathology – third edition.* 1978; 70-75.

**BERTAAZZOLO W., COMAZZI S., SESSO L., SCARPA P. et al.**

Comparison of methods for determining platelet numbers and volume in Cavalier King Charles spaniels.

*Journal of Small Animal Practice.* 2007; **48**:556-561.

**BESSIS MC.**

Mesure du volume globulaire. Techniques de centrifugation.

*Cellules du sang normal et pathologique.* Paris, Masson et Compagnie. 1972 ;815.

**BIENZLE D., STANTON JB., EMBRY JM, BUSH SE. et al.**

Evaluation of in-house centrifugal hematology analyser for use in veterinary practice.

*JAVMA.* 2000;**217**(8):1195-1200.

**BROWN SA., BARSANTI JA.**

Quantitative Buffy Coat for hematologic measurements of canine, feline, and equine blood samples and for detection of microfilaremia in dogs.

*Am J Vet Res.* 1988;**49**(3):321-324.

**BUURMAN W., VEGT P., GROENEWEGEN G. et al.**

Analysis of buoyant density of canine peripheral blood leukocytes with PVP-SILICA (Percoll) density gradients.

*Veterinary Immunology and Immunopathology.* 1982;**3**(6):547-556.

**DAVIDSON E.**

The distribution of the cells in the buffy layer in chronic myeloid leukaemia.

*Acta Haematologica.* 1960;**23**(1):22-28.

**DEWHURST EC., CRAWFORD E., CUE S., DODKIN S. et al.**

Analysis of canine and feline haemograms using the VetScan HMT analyser.

*Journal of Small Animal Practice.* 2003;**44**:443-448.

**DUCROCQ F.**

Contribution à l'étude du buffy coat chez le chien malade.

*Th. Doc. Vet. Toulouse.* 1998.

**FELDMAN FB., ZINKL JG., JAIN NC.**

Classification and Laboratory Evaluation of Anemia.

*Schalm's Veterinary Hematology – fifth edition.* 2000; 143-150.

**GAUNT PS., GAUNT SD., CRAIG TM.**

Extreme neutrophilic leukocytosis in a dog with hepatozoonosis.

*Journal of the American Veterinary Medical Association JAVMA.* 1983;**182**(4):409-410.

**GOTTHELF LN.**

Differential white blood cell count using the buffy coat smear technique.

*Veterinary Medicine and Small Animal Clinician.* 1983;**78**(3):319-321.

**GUELFY JF.**

Le microhématocrite. Le Buffy Coat.

*L'hématologie du chien en pratique vétérinaire.* PMCAC éditions. 2006 ;10,12. (photos 21,22)

**GUELFY JF., JULIE P.**

Profil hématologique par analyse quantitative du « buffy coat » (QBC) chez le chien, le chat et le cheval.

*Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie.* 1989 ;**24**(4) :485-491.

**GUELFY JF., TRUMEL C.**

Evaluation d'un appareil d'hématologie, le QBC VetAutoread. Comparaison avec les méthodes de référence.

*Revue Med Vet.* 1995 ;**146**(11) :765-770.

**HART AH.**

Quantitative Buffy Coat.

*Veterinary Clinical Pathology.* 1988 ;17(1) :17-19.

**HOFMANN-LEHMANN R., WEGMANN D., WINKLER G.C., LUTZ H.**

Evaluation of the QBC-Vet Autoread Haematology System for Domestic and Pet Animal Species.

*Comparative Haematology International.* 1998;**8**:108-116.

**HUMPHREY AA.**

Use of the buffy coat layer in the rapid diagnosis of septicemia.

*Am. J. Clin. Path.* 1944;**14**:358-362.

**JAIN NC.**

Developing a hemogram.

*Essential of veterinary hematology.* Philadelphia, Lea and Febiger. 1993;2-5.

**JAIN NC.**

Hematocrit or Packed cell volume. The microhematocrit.

*Schalm's Veterinary Hematology – fourth edition.* Philadelphia, Lea and Febiger. 1986;3,36-39,41.

**JENSEN AL., KJELGAARD-HANSEN M.**

Method comparison in the clinical laboratory.

*Vet Clin Path.* 2006;**35**(3):276-286.

**JULIE P.**

Réalisation de l'hémogramme du chien et du chat avec l'analyseur QBC-V et le Sysmex E-500.

*Th. Doc. Vet. Toulouse.* 1989.

**KOPLITZ SL., SCOTT MA., COHN LA.**

Effects of platelet clumping on platelet concentrations measured by use of impedance or buffy coat analysis in dogs.

*JAVMA.* 2001;**219**(11):1552-1556.

**LACROIX C.**

Contribution à l'étude de la composition leucocytaire du buffy coat (couche leucoplaquettaire) du chien adulte sain.

*Th. Doc. Vet. Nantes.* 1994.

**LEVINE RA., HART AH., WARDLAW SC.**

Quantitative Buffy Coat of blood collected from dogs, cats and horses.

*JAVMA.* 1986;**189**(6):670-673.

**NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS** : 2000,  
Procedure for determining packed cell volume by the microhematocrite method approved standard – third edition. Document H7-A3. NCCLS, Wayne, PA

**NORMAN JE., BARRON RCJ., NASH AS., CLAMPITT RB.**

Prevalence of low automated platelet counts in cats: comparison with prevalence of thrombocytopenia based on blood smear estimation.

*Veterinary Clinical Pathology.* 2001;**30**(3):137-140.

**OLSEN LH., KRISTENSEN AT., QVORTRUP K., PEDERSEN HD.**

Comparison of manual and automated methods for determining platelets counts in dogs with macrothrombocytopenia.

*J Vet Diagn Invest.* 2004;**16**:167-170.

**PAPASOULIOTIS K., CUE S., GRAHAM M., SPARKES AH. et al.**

Analysis of feline, canine and equine hemograms using the QBC VetAutoread.

*Veterinary Clinical Pathology.* 1999;**28**(3):109-115.

**PEDERSEN TL., KJAERGAARD E., PLESNER T.**

Quantitative buffy-coat analysis in haematological patients compared to standard laboratory methods.

*Scand J Clin Lab Invest.* 1990;**50**:657-661.

**REBAR AH., MAC WILLIAMS PS., FELDMAN BF.**

Quantitative methods. Packed Cell Volume

*Guide to hematology in dogs and cats.* Idexx laboratories. 1988;16-17.

**STOCKHAM SL., SCOTT MA.**

Microhematocrit.

*Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology - second edition.* 2008;124.

**TASKER S., CRIPPS PJ., MACKIN AJ.**  
Estimation of Platelet Count on Feline Blood Smears.  
*Veterinary Clinical Pathology*. 1999;**28**(2):42-45.

**TASKER S., CRIPPS PJ., MACKIN AJ.**  
Evaluation of methods of platelet counting in the cat.  
*Journal of Small Animal Practice*. 2001;**42**:326-332.

**THRALL MA., BAKER DC., CAMPBELL TW. et al.**  
Packed cell volume. In : Hematologic Techniques  
*Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. 2004;3-6.

**TREMBLAY JA., RIFE HM.**  
Quantitative Buffy Coat : a one-year system review.  
*Veterinary Medicine*. 1989;**84**(5):549-551.

**TVEDTEN H., LILLIEHOOK I., HILLSTROM A., HAGGSTROM J.**  
Plateletcrit is superior to platelet count for assessing platelet status in Cavalier King Charles Spaniels.  
*Veterinary Clinical Pathology*. 2008;**37**(3):266-271.

**VOIGT GL.**  
Packed Cell Volume  
*Hematology techniques and concepts for veterinary technicians*. 2000;7-9,28-31.

**WARDLAW SC., LEVINE RA.**  
Quantitative Buffy Coat. A new laboratory tool functioning as a screening complete blood cell count.  
*JAMA*. 1983;**249**(5):617-620.

**WEGMANN D., HOFMANN-LEHMANN R., LUTZ H.**  
Kurzevaluation des QBC-Vet Autoread-System.  
*Tierärztl Prax*. 1997;**25**:185-191.

**WEISS DJ.**  
Application of flow cytometric techniques to veterinary clinical haematology.  
*Veterinary Clinical Pathology*. 2002;**31**(2):72-82.

**WENGER-RIGGENBACH B., HASSIG M., HOFMAANN-LEHMANN R., LUTZ H.**  
Evaluation of the LaserCyte : an in-house hematology analyser for dogs and cats.  
*Comp Clin Pathol*. 2006;**15**:117-129.

**WETSER MAY-GRÜNWARD.**  
Hematologic techniques Veterinary Clinics of North America.  
*Small Animal Practice*. 1981;**11**(2):189-208.

**WILLARD MD., TVEDBEN H., TURNWALD GH.**  
Microhematocrit.  
*Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods - third edition*. 1999;14-15.

**WINTROBE MM.**

Macroscopic examination of the blood.

*American Journal of Medical Science.* 1933;**185**(1):58-71.

**WINTROBE MM., LEE GR., BOGGS DR. et al.**

Principes de l'examen hématologique

*Hématologie clinique – 8ème édition.* Philadelphia, Lea and Febiger. 1990;**1**:7-12

**ZUCKER RM., CASSEN B.**

The separation of normal human leukocytes by density and classification by size.

*Blood.* 1969;**34**(5):591-600.



Toulouse, 2009

NOM : ETIENNE

PRENOM : Claire-Lise

TITRE : Etude comparative de la mesure de l'épaisseur du buffy coat avec les valeurs chiffrées de l'hémogramme chez le chien.

RESUME :

Le buffy coat, obtenu après centrifugation de sang de chien recueilli sur anticoagulant selon les recommandations du National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), est le reflet de la numération leuco-plaquettaire chez le chien. Notre étude s'intéresse à la fiabilité de la mesure de cette couche leuco-plaquettaire en vue d'un diagnostic rapide de leucopénie et leucocytose. Seules des méthodes de mesures simples (abaque, règle et papier millimétré) ont été étudiées dans un souci de réalisation au quotidien par le praticien vétérinaire. Notre étude comparative montre que la mesure du leucocrite est un outil diagnostique supplémentaire dans le cas de leucocytoses marquées.

MOTS-CLES : Microhématocrite - Buffy Coat - Chien - Leucocytes - Plaquettes sanguines - Sang

---

ENGLISH TITLE: Comparative study measurement of the buffy coat thickness with the leukogram numerical values in canine blood.

ABSTRACT:

Buffy coat obtained after centrifugation of canine blood as recommended by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), reflects the leuko-platelet counts in dogs. Our study focuses on the reliability of measurement of the buffy coat for rapid diagnosis of leukopenia and leukocytosis. Only elementary measure methods (abacus, ruler and graph paper) were studied in order to achieve a daily basis for the veterinary practitioner. Our comparative study shows that the extent leukocrite is a supplementary diagnostic tool in cases of marked leukocytosis.

KEY WORDS: Microhematocrit - Buffy Coat - Dog - Leukocytes- Platelets - Blood