



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

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

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 8289](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/ID/8289)

To cite this version :

Hanot, Camille. *Détermination d'intervalles de référence des bilans d'hémostase de routine chez le chien sain déterminés avec un analyseur STA-Satellite (Diagnostica Stago) : étude expérimentale*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2012, 88 p.

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

DETERMINATION D'INTERVALLES DE REFERENCE DES BILANS D'HEMOSTASE DE ROUTINE CHEZ LE CHIEN SAIN DETERMINES AVEC UN ANALYSEUR STA-SATELLITE (DIAGNOSTICA STAGO) : ETUDE EXPERIMENTALE.

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

par

HANOT CAMILLE, CLEMENCE
Née, le 19 Octobre 1986 à Saint-Quentin (02)

Directeur de thèse : Mme Cathy TRUMEL

JURY

PRESIDENT :

Mme Monique COURTADE-SAÏDI

Professeure à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Cathy TRUMEL

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme Nathalie BOURGES-ABELLA

Maitre de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. A. MILON

Directeurs honoraires M. G. VAN HAVERBEKE.
M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELF	M. DORCHIES
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1° CLASSE

M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 2° CLASSE

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
M. **DASTE Thomas**, *Urgences-soins intensifs*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*
Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
M. **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeure Monique COURTADE-SAÏDI

Professeure des Universités,
Praticien hospitalier,
Histologie, Embryologie.

Merci de nous faire l'honneur de présider le jury de cette thèse.
Hommages respectueux.

A Madame le Professeure Cathy TRUMEL

Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Biologie Médicale.

Pour votre implication et votre disponibilité dans la réalisation de cette étude.
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Nathalie BOURGES-ABELLA

Maitre de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Histologie.

Pour votre intérêt pour ce travail et pour avoir accepté de faire partie de notre jury de thèse,
Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Jean-Pierre BRAUN,
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Physique et chimie biologiques et médicales.

Pour votre aide précieuse dans la réalisation de cette étude et pour vos conseils toujours avisés,
Sincères remerciements.

A Mademoiselle le Docteur Anne GEFRE,
Ingénieure de recherche à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Biologie Médicale.

Pour m'avoir permis de participer à cette étude, pour ton aide précieuse et tes conseils,
Sincères remerciements.

A Mademoiselle le Docteur Sophie GROLLIER,
Praticienne vétérinaire.

Pour m'avoir également proposé de participer à cette étude, pour ton implication et pour ton aide,
Sincères remerciements.

Aux techniciennes du Labo,
Qui ont pris part à cette étude de près ou de loin.
Mille mercis !

A tous les intervenants de l'entreprise Diagnostica Stago,
Pour le soutien technique, un grand merci.

A tous les éleveurs de chiens qui ont participé à cette étude, avec patience, gentillesse et organisation.
Sans votre participation, cette étude n'aurait pu voir le jour.
Enormes mercis !

A Thibaud,

Mon Ange.

Tu es mon bonheur ! Je t'aime de tout mon cœur.

A Papa et Maman et à mes « ptites » sœurs Hélo et Mim',

Je vous aime aussi de tout mon cœur.

Vous comptez énormément pour moi ; le peu de temps que je vous consacre est bien loin d'être le reflet de ce que je ressens.

Merci de m'avoir malgré cela toujours soutenue et de m'avoir donné les moyens de réaliser mon rêve d'enfant, devenir vétérinaire.

A mes grands-parents et à ma famille au grand complet,

D'une valeur inestimable à mes yeux. Un grand merci !

A Cathy, ma bonne étoile,

Sans qui mes projets d'avenir ne seraient pas ce qu'ils sont aujourd'hui.

Pour ta gentillesse et ton altruisme à toute épreuve, ta passion dans le travail, ton humilité et ta disponibilité. Mille mercis pour tout !

A Nanou,

Pour l'aide précieuse que tu m'as apportée pour la rédaction de ma thèse, tes conseils, mais aussi pour ton humour, les soirées crêpes-wii et cette merveilleuse année au labo !

A Sophie

Pour ta gentillesse, tes conseils, pour m'avoir, avec Nanou, si vite intégrée à l'équipe. Très heureuse de t'avoir retrouvée ensuite pour quelques petits mois en consult' de cancéro !

A Mélanie,

Merci beaucoup pour cette partie d'année à tes côtés les lundis matins. Mille mercis de m'avoir soutenue dans mes projets et de m'avoir guidée ! Quelle gentillesse !

A Aurélie Z,

Pour tes conseils avisés, ta patience et ton enthousiasme communicatifs. Un réel plaisir d'avoir travaillé avec toi.

A Louis-Philippe,

Merci beaucoup de m'avoir acceptée en stage et si gentiment suivie dans mes démarches. Passion pour l'oncologie partagée !

A l'équipe du Labo,

Une année exceptionnelle à vos côtés. Merci pour tout !

A Cha, « ma caille chérie »,

Pour tous ces très bons moments passés ensemble (et ceux à venir). Ravie que tu sois venue frapper à ma porte en début de deuxième année !

Ne change rien, ton extrême gentillesse et ton sérieux sont tout à ton honneur :) Je tiens très fort à toi !

A Justine, ma fidèle amie,

A nos excursions, nos petites virées du dimanche et tes matchs de polo (dont j'avoue n'avoir toujours pas compris les règles...). Quel courage et quelle force, tu m'impressionneras toujours !

A Mag, Marielle, Nico et Ninoune,

(L'ordre n'est qu'alphabétique, vous comptez tous autant pour moi !)

J'aurais voulu vous connaître depuis le début ! Que de bons moments passés à vos côtés ! Oui, oui, que de bons (je ne me souviens pas vous avoir entendus râler !?). MERCI !

A Benoit, mon collègue de travail et très cher ami ;)

Toujours surprenant et d'une grande constance dans ta gentillesse, merci pour ces bons moments ! Quoi ?! mon futur co-interne et futur coloc' ?! Allez, c'est reparti ! ;P

A Lulu,

My dear friend, take care !

A Pauline et Romain,

Nous nous sommes un peu perdus avec les années mais les moments passés ensemble ne sont que de bons souvenirs ; j'espère qu'il y en aura d'autres !

A Ragotte, Marine et Julie, mes petites poulottes,

Pour nos dîners presque parfaits, entre bien d'autres. Merci à vous !

A Manue,

Toulouse était en effet un très bon choix ! Merci pour ces bons moments passés ensemble.

A Sara, Sophie, et mes autres docs,

Merci pour votre accueil ! Merci Sophie de m'avoir prise sous ton aile pendant nos années d'école communes !

A Audrey,

Toujours rigolote, j'ai adoré travaillé avec toi ! On arrivera peut-être à prévoir un petit repas avec Thib...un jour... ;)

A Laurette, Angel',

Merci pour votre gentillesse à toute épreuve !

A Alexis, Doui, Clément, Céline, et toute la clique,

Merci pour votre accueil dans le cercle de Thib !

A Béroé, les pious, Ginette, Nelson, Couto, les 4 fantastiques du bassin,
Pour l'animation que vous mettez dans la maison.

Et à Fifteen,
Pour l'animation que tu mets à toi toute seule !

A ma ptite Groseille, ma ptite Mimine et à la terrible Biscotte,
Vous serez toujours dans mon cœur.

L'écriture des remerciements a été l'un des exercices les plus délicats. J'ai modifié de très nombreuses fois ce paragraphe et le trouve pour autant toujours inachevé.

A tous ceux que je n'ai pas cités, un grand merci !

TABLE DES MATIERES

Remerciements	7
Table des matières	17
Table des illustrations	19
Liste des abréviations.....	21
 Introduction.....	 23
1. Matériel et méthode.....	25
1.1. Sélection des sujets de la population de référence	25
1.2. Caractéristiques pré-analytiques et prélèvement des spécimens	27
1.3. Analyse des spécimens	27
1.4. Traitement statistique des données.....	29
2. Résultats.....	31
2.1. Caractéristiques de la population de référence	31
2.2. Intervalles de référence.....	33
2.2.1. Intervalle de référence du TQ	34
2.2.2. Intervalle de référence du TCA	36
2.2.3. Intervalle de référence du FIB.....	38
2.2.4. Intervalle de référence de l'AT.....	40
2.2.5. Bilan : intervalles de référence des 4 analytes.....	42
3. Discussion.....	45
3.1. Sélection des sujets de la population de référence	45
3.2. Les facteurs pré-analytiques.....	47
3.3. Stabilité des analytes étudiés	47
3.4. Détermination des intervalles de référence	48
3.5. Méthodes de détermination d'un intervalle de référence	50
3.6. Effet de l'âge, de la race et du sexe du chien	51
 Conclusion	 53
 References bibliographiques.....	 57
Annexes	61

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLE DES FIGURES

<i>Figure 1</i> : Distribution des âges des 139 chiens utilisés lors de l'étude des valeurs de référence de la coagulation.	32
<i>Figure 2</i> : En haut : Histogramme de la distribution des valeurs de TQ chez les 139 chiens et courbe de la distribution gaussienne ; en bas : Distribution des valeurs sur un axe des centiles.	34
<i>Figure 3</i> : Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du TQ avec une loi normale.	34
<i>Figure 4</i> : En haut : Histogramme de la distribution des valeurs du TCA chez les 139 chiens et courbe de la distribution gaussienne ; en bas : Distribution des valeurs sur un axe des centiles.	36
<i>Figure 5</i> : Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du TCA avec une loi normale.	36
<i>Figure 6</i> : En haut : Histogramme de la distribution des valeurs du FIB chez les 139 chiens et courbe de la distribution gaussienne ; en bas : Distribution des valeurs sur un axe des centiles.	38
<i>Figure 7</i> : Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution du FIB observée avec une loi normale.	38
<i>Figure 8</i> : En haut : Histogramme de la distribution des valeurs de l'AT chez les 139 chiens et courbe de la distribution gaussienne ; en bas : Distribution des valeurs sur un axe des centiles.	40
<i>Figure 9</i> : Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution de l'AT observée avec une loi normale.	40

TABLE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1</i> : Réactifs et caractéristiques des méthodes basées sur les données du fabricant.	28
<i>Tableau 2</i> : Caractéristiques de la population étudiée : races.	31
<i>Tableau 3</i> : Caractéristiques de la population étudiée : sexe.	32
<i>Tableau 4</i> : Résultats de l'analyse statistique des valeurs de TQ.	35
<i>Tableau 5</i> : Résultats de l'analyse statistique des valeurs de TCA.	37
<i>Tableau 6</i> : Résultats de l'analyse statistique des valeurs du FIB.	39

<i>Tableau 7</i> : Résultats de l'analyse statistique des valeurs de l'AT.	41
<i>Tableau 8</i> : Caractéristiques de la distribution des 4 analytes chez 139 chiens sains (moyenne, minimum et maximum, normalité évaluée avec le test d'Anderson-Darling, transformation qui correspond la mieux à la distribution gaussienne) ; calculs effectués à partir de la moyenne des résultats de chaque doublon.....	43
<i>Tableau 9</i> : Estimations des intervalles de références des 4 analytes chez 139 chiens sains (P : méthode paramétrique ; NP : méthode non-paramétrique ; intervalle de confiance 90% inscrit entre parenthèses).....	44

LISTE DES ABREVIATIONS

TQ	Temps de Quick
TCA	Temps de céphaline plus activateur
AT	Antithrombine
FIB	Fibrinogène
ENVT	Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
CLSI	Clinical Laboratory and Standards Institute
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
s	Seconde
min	Minute
h	Heure
j	Jour
g/L	Gramme par litre
mL	Millilitre
°C	Degré Celsius
g	Accélération radiale
%	Pourcent
P	Estimation paramétrique
NP	Estimation non-paramétrique
moy	Moyenne

INTRODUCTION

L'hémostase est évaluable *in vitro* en routine sur la base de différents tests et constitue un examen complémentaire de choix dans la démarche diagnostique d'un clinicien vétérinaire. Toutefois, l'interprétation de résultats d'examens réalisés dans le domaine de la biologie clinique n'est envisageable qu'à condition de disposer des intervalles de référence pour ces analytes dans l'espèce examinée.

Il n'existe à ce jour que peu de rapports de source primaire quant aux intervalles de référence des marqueurs de la coagulation chez le chien^{4, 25, 27} et aucun d'entre eux ne suit les recommandations internationales. Les critères d'inclusion des chiens sélectionnés ainsi que les techniques analytiques employées ne sont pas toujours clairement détaillés.

L'introduction d'un nouvel analyseur : STA-Satellite (Diagnostica Stago) au Laboratoire Central de Biologie Médicale de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse fut l'opportunité de déterminer les intervalles de référence *a priori* des principaux marqueurs de la coagulation chez le chien. L'étude a porté sur quatre analytes demandés en routine pour les bilans d'hémostase chez le chien au Laboratoire : le temps de Quick (TQ), le temps de céphaline plus activateur (TCA), le fibrinogène (FIB) et l'antithrombine (AT). A notre connaissance, aucune étude n'a encore porté sur cet analyseur chez le chien.

La présente étude, prospective, se fonde sur les recommandations de l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) élaborées en médecine humaine pour la production d'intervalles de référence^{1, 16, 19-22}.

1. MATERIEL ET METHODE

Le protocole expérimental a été élaboré en suivant les recommandations de l'IFCC^{1, 16, 19-22} élaborées pour la production d'intervalles de référence pour un nouvel analyte ou une nouvelle méthode d'analyse en biologie médicale.

Une partie de l'étude nécessitant le transport des spécimens du lieu d'élevage des chiens au Laboratoire, la stabilité des analytes a été évaluée au cours d'une étude préliminaire, détaillée en **[Annexe 1]**. Aucune donnée n'était disponible à ce sujet dans la littérature à cette époque. La stabilité du TQ et du TCA sur plasma canin citraté pendant 24 heures (à température ambiante) a ultérieurement été confirmée par une équipe anglaise¹⁸.

Cette étude expérimentale a été réalisée entre les mois de février et de mars 2008.

1.1. Sélection des sujets de la population de référence

La principale difficulté dans la détermination d'un intervalle de référence réside dans la sélection de la population de référence, qui ne doit être composée que de chiens sains.

Il a été choisi de ne considérer que des chiens de pure race. Le nombre d'animaux sélectionnés dans chaque race devait être représentatif de la prévalence de cette race en France (d'après les chiffres de la Société Centrale Canine¹⁰ - janvier 2008) ; prévalence en France qui est, par ailleurs, estimée identique à celle rencontrée dans le sud-ouest de la France **[Annexe 2]**.

Les sujets de référence ont été recrutés au hasard, dans la population canine du sud-ouest pour une question pratique. Une liste d'élevages potentiels de chiens de race a été établie grâce au site internet de la Société Centrale Canine¹⁰. Le recrutement définitif des élevages a été basé sur les informations fournies par les éleveurs par téléphone (nombre de chiens, races élevées, sexe des individus correspondant aux critères d'inclusion de l'étude).

¹ Site internet de la Société Centrale Canine : www.scc.asso.fr

La collecte des spécimens s'effectuait ensuite au domicile des éleveurs afin de limiter le stress des animaux.

Les critères d'inclusion ont été les suivants :

- Des chiens de pure race (enregistrés au Livre des Origines Françaises) ;
- Pour chaque race: un nombre d'animaux proportionnel à la prévalence de chacune des races en France ;
- Des chiens jugés en bonne santé, suite d'une part aux réponses des éleveurs à un questionnaire et d'autre part à un examen clinique complet effectué par un vétérinaire ; détails en **[Annexe 5]** ;
- Animaux à jeun depuis au moins 8 heures (consigne donnée par téléphone : dernier repas à 20 heures la veille du prélèvement, eau retirée à minuit)

Les critères d'exclusion ont été les suivants :

- Une affection déclarée dans le mois précédant le prélèvement sanguin ;
- Des saignements inhabituels ;
- La prise de tout traitement à l'exception d'antiparasitaires internes et externes ;
- Un remplissage de tube insuffisant ;
- Une couleur anormale du plasma (hémolyse, lipémie) ;
- Un chien non à jeun ;
- Une anomalie détectée au cours de l'examen clinique ;
- Un animal stressé ou une prise de sang difficile à réaliser.

Un formulaire de consentement éclairé a été rempli par l'ensemble des éleveurs.

Un objectif de 120 spécimens (inclus dans l'étude) a été fixé afin de prétendre à des intervalles de confiance à 90% des limites des intervalles de référence.

Pour limiter le biais d'échantillonnage, il a été décidé d'inclure au maximum 5 chiens de même race par élevage ; plusieurs races pouvant éventuellement être prélevées dans un même élevage.

1.2. Caractéristiques pré-analytiques et prélèvement des spécimens

Les caractéristiques pré-analytiques ont été définies en accord avec les recommandations pour la collecte des spécimens et leur analyse en clinique vétérinaire⁸.

Les prises de sang ont été réalisées à la veine jugulaire sur tube sous vide citraté par un opérateur expérimenté.

Pour chaque chien, un spécimen de 4,5mL de sang a été prélevé par ponction de la veine jugulaire dans un tube Na₃Citrate Buffered 9NC 4,5 mL (Venoject, Terumo Europe N.V., Leuven, Belgium) par un système de tube sous vide muni d'une aiguille 20G (Venoject Multisample 0,8 x 40 mm, Terumo Europe N.V., Leuven, Belgium), homogénéisé immédiatement après récolte par une dizaine d'inversions, identifié suivant le code explicité dans le protocole (**[Annexe 2]**) et stocké à + 4°C dans l'attente de son analyse au laboratoire. Le délai maximum écoulé entre la réalisation du prélèvement et le traitement des spécimens au laboratoire a été de 6 heures mais la majorité des prélèvements sanguins ont été traités en moins de 4 heures. En moyenne, chaque jour, une quinzaine de spécimens étaient réalisés, provenant de deux à trois élevages différents.

1.3. Analyse des spécimens

Les tubes de sang total citraté ont été centrifugés à température ambiante pendant 15 minutes à 1300g soit 4000 tours/min (Rotofix 32A, Hettick Zentrifugen, Tuttlingen, Germany). Le surnageant a été transféré dans un tube Eppendorf reprenant la même identification et le culot cellulaire a été jeté. Les plasmas lipémiques et les plasmas présentant une couleur anormale ont été exclus de l'étude.

Les tubes Eppendorf étaient ensuite placés dans l'analyseur STA-Satellite pour effectuer la mesure du TQ, du TCA, du FIB et de l'AT.

Les analyses étaient réalisées par une méthode coagulométrique pour le TQ, le TCA et le FIB, et par un test colorimétrique pour l'AT. Les réactifs et les caractéristiques des techniques sont résumés dans le **[Tableau 1]**. Lorsque c'était nécessaire, une configuration vétérinaire du logiciel de l'analyseur réalisait des dilutions automatiquement, augmentant ainsi les gammes standard des analyses humaines pour les valeurs les plus basses et les plus hautes. Avant chaque cycle d'analyses, l'équipement était vérifié suivant les recommandations du fabricant pour l'analyseur STA-Satellite.

Tableau 1 : Réactifs et caractéristiques des méthodes basées sur les données du fabricant.

Données du fabricant			
Analyte	Méthode	Réactif	Gamme analytique
TQ	Coagulation	STA Neoplastine CI Plus	3.0-120.0 s
TCA	Coagulation	STA Cephascreen	10.0-180.0 s
FIB	Coagulation	STA-Fib2	1.5-9.0 g/L 0.6-12g/L*
AT	Colorimétrie	Stachrom AT	9-140 %

*avec la configuration vétérinaire du logiciel

Pour chaque spécimen, l'analyse a été réalisée en doublon. Les résultats numériques ont été sauvegardés sur fichier informatique, imprimés et stockés dans le cahier d'expérimentation pour les deux passages de chaque tube en attendant l'analyse statistique finale. L'ensemble des opérations effectuées sur l'analyseur STA-Satellite et des difficultés rencontrées au cours de l'analyse ont été manuscrites sur le cahier d'expérimentation, assurant ainsi la traçabilité de cette étude.

1.4. Traitement statistique des données

Pour chaque analyte, une courbe de distribution a été réalisée et visuellement inspectée afin de détecter toute mesure aberrante, confirmée ensuite statistiquement (critère de Dixon-Reed).

Les intervalles de référence et les intervalles de confiance à 90% des limites des intervalles de référence ont été déterminés par une méthode non paramétrique, conformément aux recommandations de l'IFCC-CLSI²²⁻²³.

Le partitionnement des valeurs de référence selon le sexe de l'animal a été envisagé à l'aide du test Z d'Harris & Boyd⁶.

Tous les calculs ont été effectués avec le tableur Excel, un logiciel d'analyse statistique (Analyse-It de Microsoft Excel (version 2.10)), et le freeware Reference Value Advisor²⁶ pour la détermination des intervalles de référence.

2. RESULTATS

Les résultats individuels ont été communiqués aux propriétaires dans les plus courts délais, accompagnés d'un commentaire signalant toute anomalie éventuelle des valeurs mesurées.

2.1. Caractéristiques de la population de référence

Les intervalles de référence ont été déterminés à l'aide d'un échantillon de référence composé de 139 chiens. Les proportions des différentes races du groupe de référence étaient aussi représentatives que possible des proportions des races de la population canine en France.

Les principales races de chien étaient des épagneuls bretons (14), des bergers allemands (12), des labradors retrievers (10), des malinois (10), des yorkshires (9), des rottweilers (9), des bouledogues français (9), des bergers australiens (9), etc. [Tableau 2].

Tableau 2: Caractéristiques de la population étudiée : races.

Race	Total des sujets		
	Nombre	%	Objectif du protocole
Epagneul Breton	14	10,1	6
Berger Allemand	12	8,6	12
Labrador	10	7,2	8
Malinois	10	7,2	5
Yorkshire	9	6,5	6
Rottweiler	9	6,5	5
Bouledogue Français	9	6,5	4
Berger Australien	9	6,5	
Pointer Anglais	8	5,8	
Golden Retriever	7	5,0	8
West Highland White Terrier	7	5,0	
Cavalier King Charles	6	4,3	7
American Staffordshire Terrier	6	4,3	7
Cocker Spaniel	6	4,3	5

Teckel	5	3,6	
Boxer	4	2,9	
Bouvier Bernois	3	2,2	
Shi Tzu	3	2,2	
Beauceron	2	1,4	
Setter Anglais	0		6

Il y a eu 88 femelles non stérilisées, 2 femelles stérilisées, et 49 mâles non castrés [Tableau 3].

Tableau 3 : Caractéristiques de la population étudiée : sexe.

Sexe	Nombre	%	Objectif du protocole
Femelle	88	63,3	50%
Mâle	49	35,3	50%
Femelle castrée	2	1,4	
Mâle castré	0	0	

Les âges s'étalaient de 6 mois à 14 ans (14 chiens de moins de 1 an dont 4 chiens âgés de 6 mois) [Figure 1].

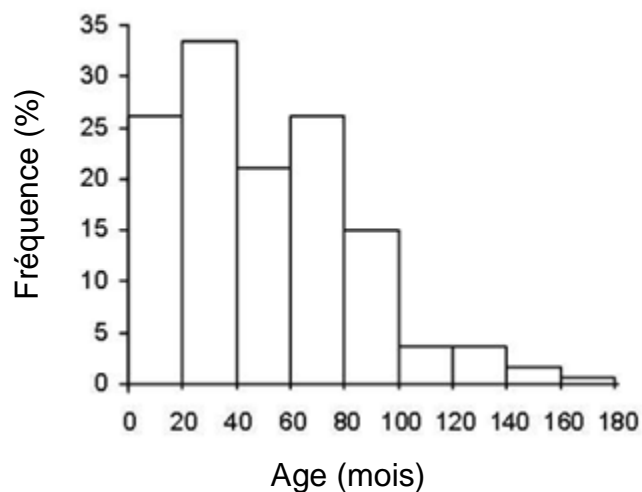


Figure 1 : Distribution des âges des 139 chiens utilisés lors de l'étude des valeurs de référence de la coagulation.

2.2. Intervalles de référence

Les données brutes pour chaque analyte sont retranscrites en **[Annexe 6]**.

Les résultats graphiques par analyte sont rapportés dans les paragraphes suivants **[Figures 2 à 9]**, suivis des résultats chiffrés de l'analyse statistique **[Tableaux 4 à 7]**.

- La distribution sous la forme d'un histogramme, associée à la courbe de distribution gaussienne, permet une appréciation visuelle des valeurs aberrantes et de la normalité **[Figures 2 à 9]**.
- La distribution des valeurs sans transformation sur un axe des centiles permet de déterminer les intervalles de référence par la méthode non-paramétrique : il s'agit des valeurs du 2,5^{ème} centile et du 97,5^{ème} centile **[Figures 2 à 9]**.

2.2.1. Intervalle de référence du TQ

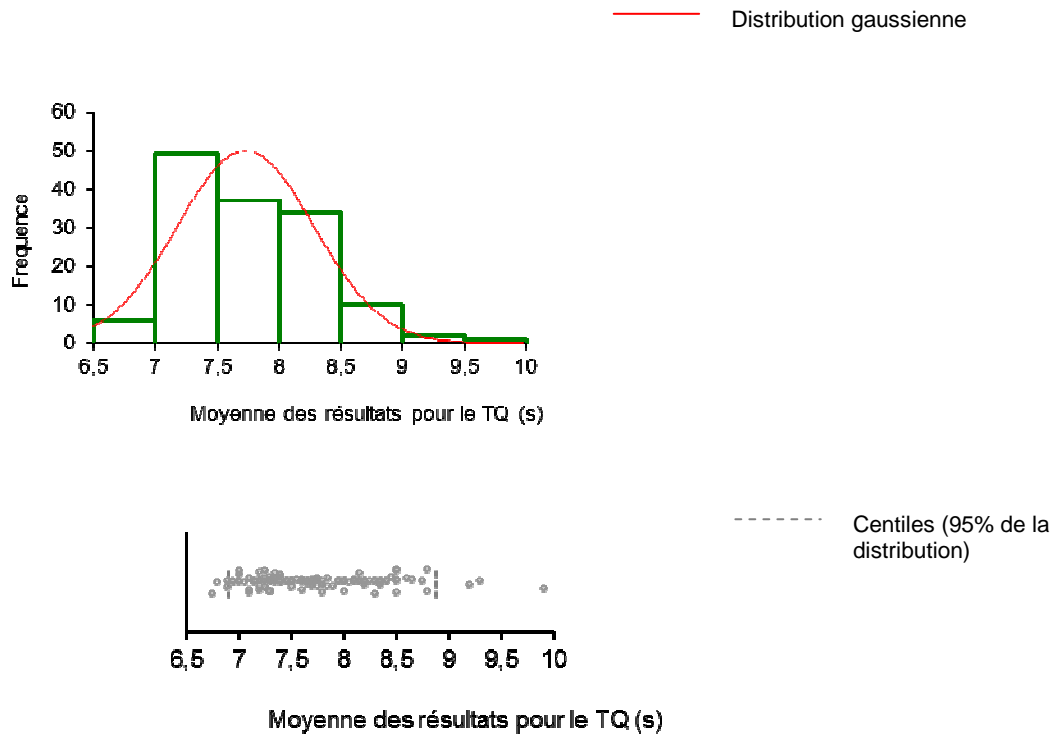


Figure 2 : En haut : Histogramme de la distribution des valeurs de TQ chez les 139 chiens et courbe de la distribution gaussienne ; en bas : Distribution des valeurs sur un axe des centiles.

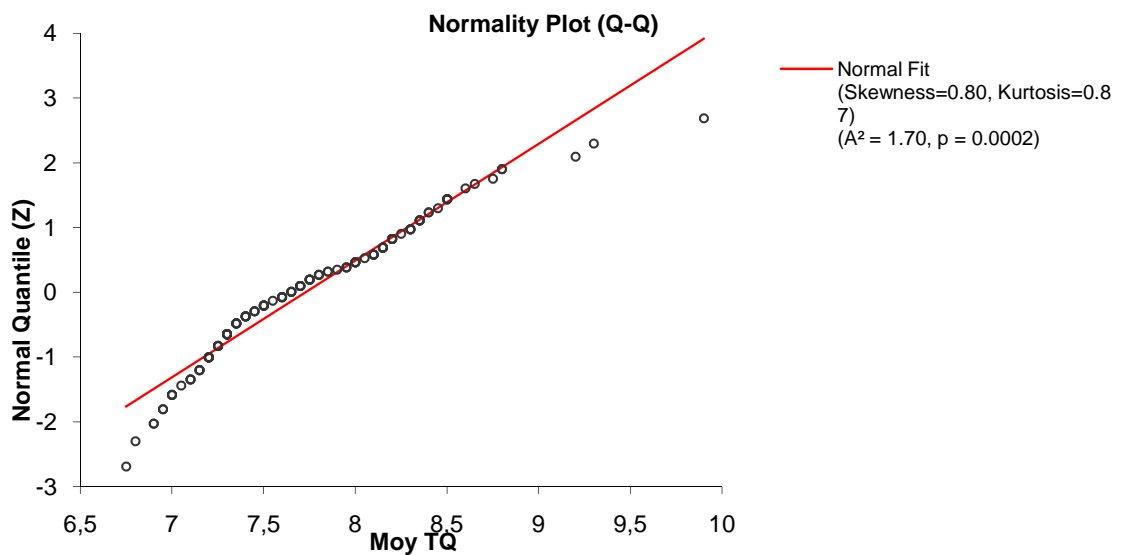


Figure 3 : Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du TQ avec une loi normale.

Tableau 4 : Résultats de l'analyse statistique des valeurs de TQ.

n	139		
Moyenne	7,728	Médiane	7,650
Intervalle de confiance à 90%	7,650 to 7,806	Intervalle de confiance à 91,1%	7,500 à 7,750
Erreur standard	0,0471	Rang	3,15
Variance	0,308	Rang interquartile	0,850
Ecart-type	0,555		
Intervalle de confiance à 90%	0,505 to 0,616	Centile	
		0 ^{ième}	6,750 (minimum)
Coefficient de variation	7,2%	2.5 ^{ième}	6,900
		25 ^{ième}	7,300 (1 ^{er} quartile)
Skewness	0,80	50 ^{ième}	7,650 (médiane)
Kurtosis	0,87	75 ^{ième}	8,150 (3 ^{ème} quartile)
		97.5 ^{ième}	8,823
Anderson-Darling A ²	1,70	100 ^{ième}	9,900 (maximum)
p	0,000		

2.2.2. Intervalle de référence du TCA

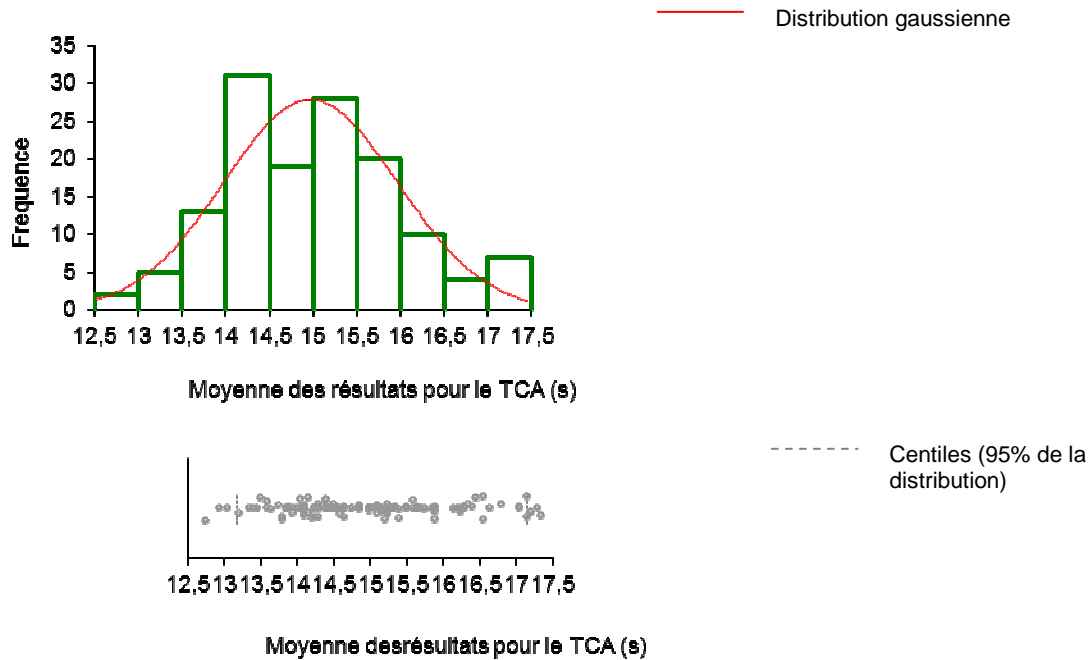


Figure 4 : En haut : Histogramme de la distribution des valeurs du TCA chez les 139 chiens et courbe de la distribution gaussienne ; en bas : Distribution des valeurs sur un axe des centiles.

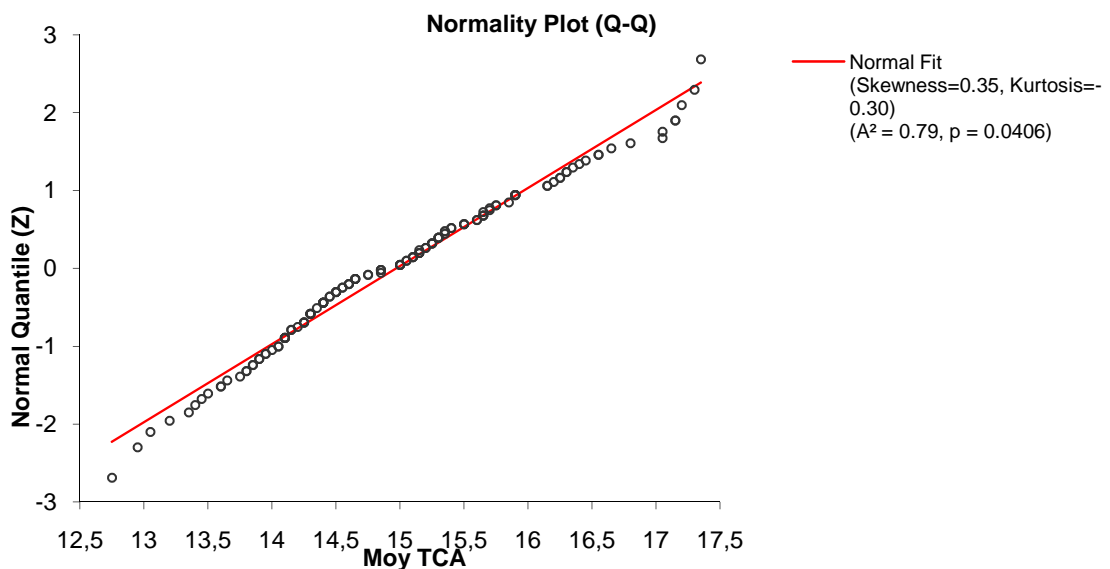


Figure 5 : Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du TCA avec une loi normale.

Tableau 5 : Résultats de l'analyse statistique des valeurs de TCA.

n	139		
Moyenne	14,970	Médiane	14,850
Intervalle de confiance à 90%	14,830 to 15,110	Intervalle de confiance à 91,1%	14,600 à 15,150
Erreur standard	0,0846		
		Rang	4,60
Variance	0,994	Rang interquartile	1,400
Ecart-type	0,997		
Intervalle de confiance à 90%	0,908 to 1,107	Centile	
		0 ^{ième}	12,750 (minimum)
Coefficient de variation	6,7%	2.5 ^{ième}	13,143
		25 ^{ième}	14,250 (1 ^{er} quartile)
Skewness	0,35	50 ^{ième}	14,850 (médiane)
Kurtosis	-0,30	75 ^{ième}	15,650 (3 ^{ème} quartile)
		97.5 ^{ième}	17,159
Anderson-Darling A ²	0,79	100 ^{ième}	17,350 (maximum)
p	0,041		

2.2.3. Intervalle de référence du FIB

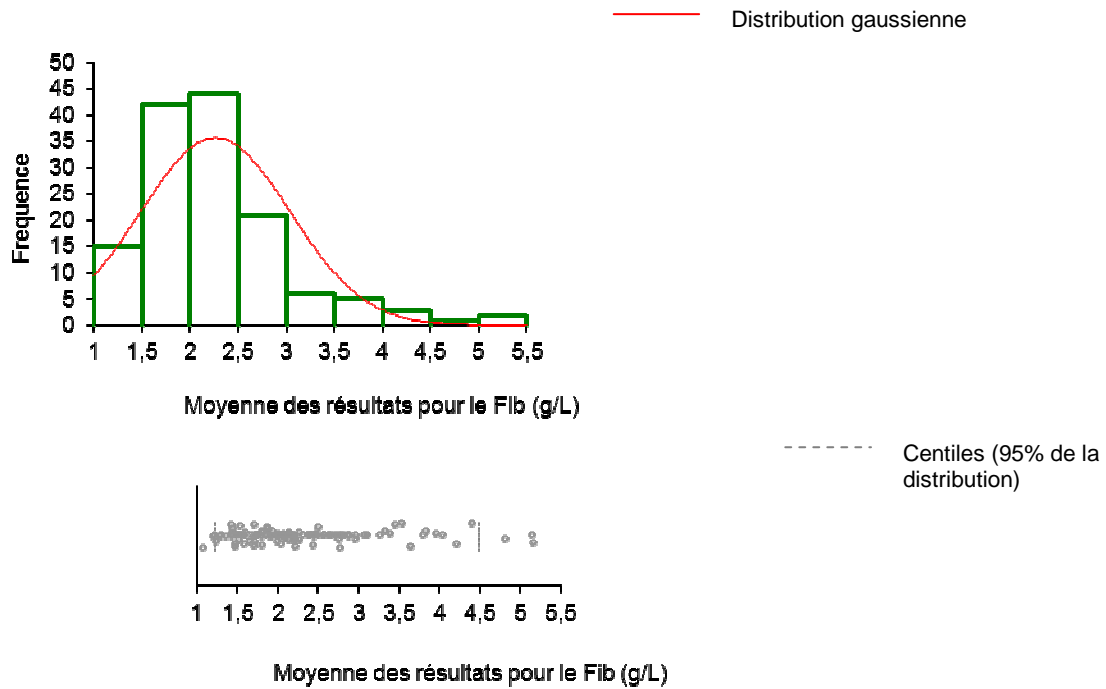


Figure 6 : En haut : Histogramme de la distribution des valeurs du FIB chez les 139 chiens et courbe de la distribution gaussienne ; en bas : Distribution des valeurs sur un axe des centiles.

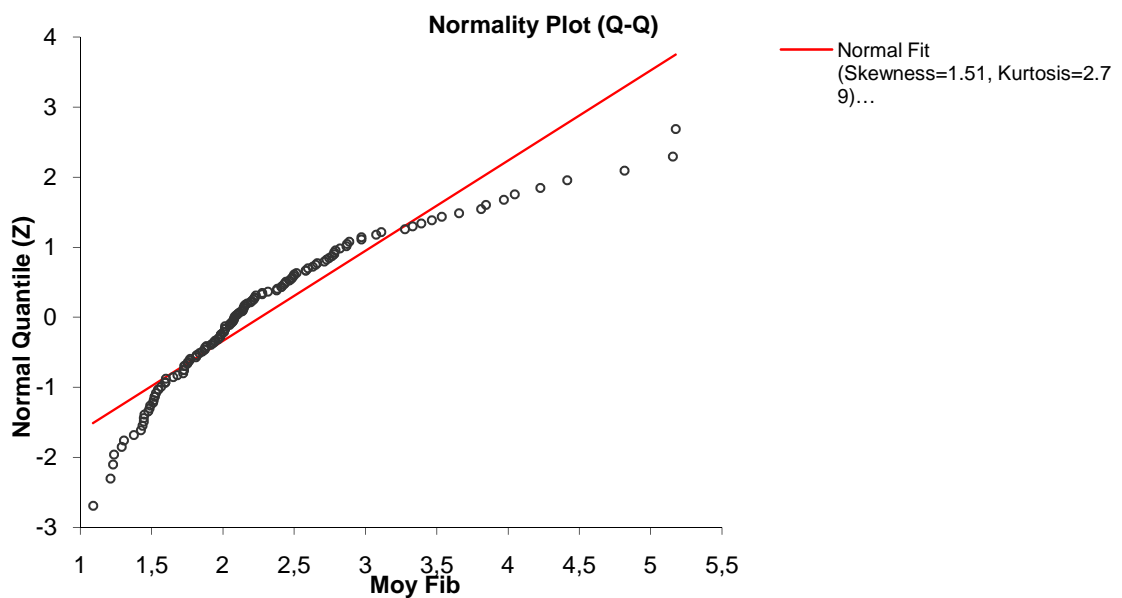


Figure 7 : Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution du FIB observée avec une loi normale.

Tableau 6 : Résultats de l'analyse statistique des valeurs du FIB.

n	139		
Moyenne	2,2632	Médiane	2,0800
Intervalle de confiance à 90%	2,1541 to 2,3723	Intervalle de confiance à 91,1%	2,0150 à 2,1550
Erreur standard	0,06588		
Variance	0,6033	Rang	4,085
Ecart-type	0,7768	Rang interquartile	0,8467
Intervalle de confiance à 90%	0,7073 to 0,8628		
		Centile	
		0 ^{ième}	1,0900 (minimum)
Coefficient de variation	34,3%	2.5 ^{ième}	1,2361
		25 ^{ième}	1,7333 (1 ^{er} quartile)
Skewness	1,51	50 ^{ième}	2,0800 (médiane)
Kurtosis	2,79	75 ^{ième}	2,5800 (3 ^{ème} quartile)
		97.5 ^{ième}	4,2983
Anderson-Darling A ²	4,29	100 ^{ième}	5,1750 (maximum)
p	<0.0001		

2.2.4. Intervalle de référence de l'AT

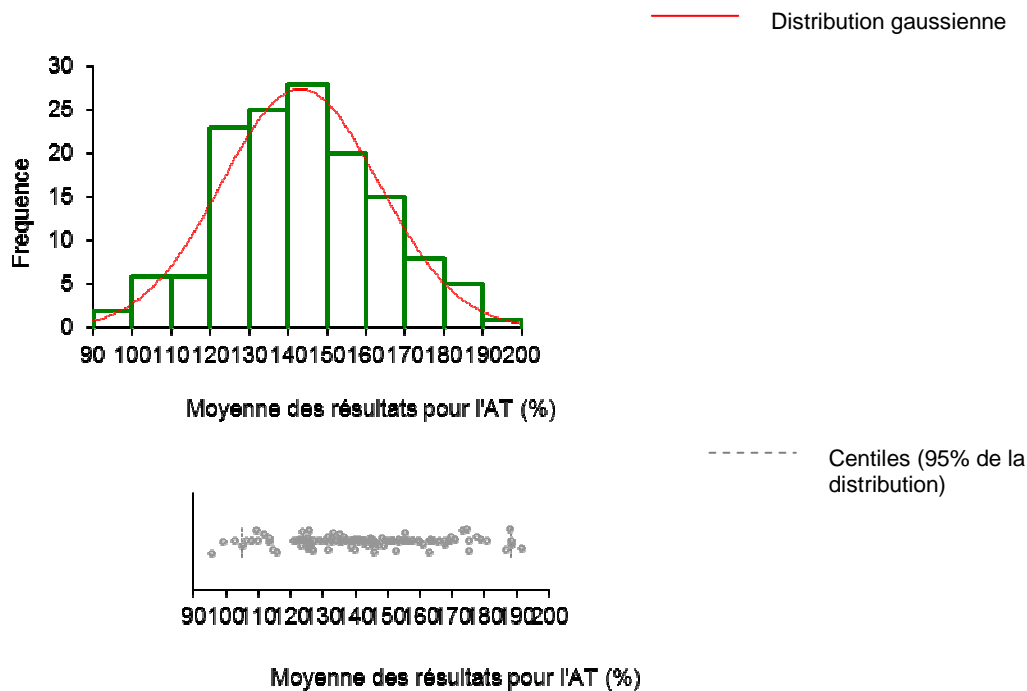


Figure 8 : En haut : Histogramme de la distribution des valeurs de l'AT chez les 139 chiens et courbe de la distribution gaussienne ; en bas : Distribution des valeurs sur un axe des centiles.

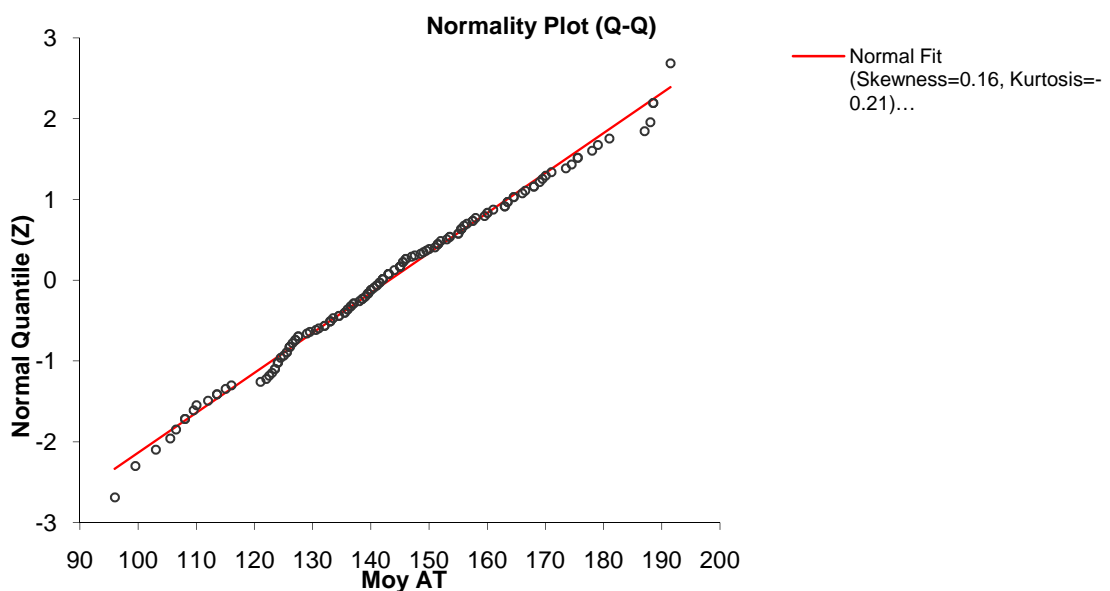


Figure 9 : Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution de l'AT observée avec une loi normale.

Tableau 7 : Résultats de l'analyse statistique des valeurs de l'AT.

n	139		
Moyenne	143,15	Médiane	142,00
Intervalle de confiance à 90%	140,31 to 145,99	Intervalle de confiance à 91,1%	139,50 à 145,00
Erreur standard	1,714		
		Rang	95,5
Variance	408,58	Rang interquartile	28,17
Ecart-type	20,21		
Intervalle de confiance à 90%	18,41 to 22,45		
		Centile	
		0 ^{ième}	96,00 (minimum)
Coefficient de variation	14,1%	2.5 ^{ième}	104,04
		25 ^{ième}	127,75 (1 ^{er} quartile)
Skewness	0,16	50 ^{ième}	142,00 (médiane)
Kurtosis	-0,21	75 ^{ième}	155,92 (3 ^{ème} quartile)
		97.5 ^{ième}	188,09
Anderson-Darling A ²	0,30	100 ^{ième}	191,50 (maximum)
p	0,576		

2.2.5. Bilan : intervalles de référence des 4 analytes

La distribution des 4 analytes de l'échantillon de référence sont représentées en [Figure 9]. La distribution gaussienne est également rappelée. Les intervalles de référence déterminés et les intervalles de confiance à 90% des intervalles de référence ont été insérés sur ces distributions.

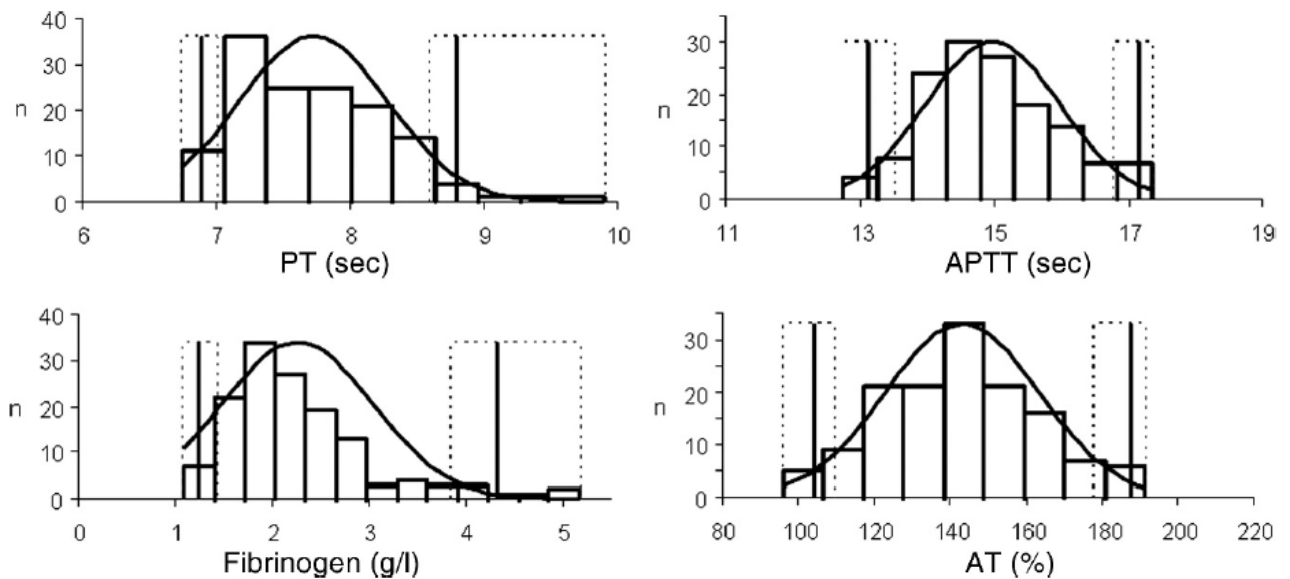


Figure 9 : Histogrammes pour TQ, TCA, FIB et AT chez les 139 chiens sains de l'étude (courbe noire : distribution gaussienne ; lignes noires continues verticales : limites de référence avec des intervalles de confiance à 90% (rectangles en ligne pointillée))².

Il n'y avait pas de valeurs aberrantes visuellement ni après évaluation des données par le critère de Dixon-Reed.

Les tests de normalité (test d'Anderson-Darling) ont été utilisés pour évaluer les distributions des 4 analytes, avant et après transformation. La description des statistiques est résumée dans le [Tableau 8].

² Ces diagrammes sont extraits de l'article qui a été publié à partir de cette étude³³. Les légendes sont en langue anglaise. PT = TQ ; APTT = TCA et Fibrinogen = FIB.

- La distribution de l'AT n'était pas significativement différente d'une distribution gaussienne.
- Les distributions du TCA et du FIB ont pu être transformées en distributions gaussiennes (TCA : distribution gaussienne en Box-Cox, en $1/x$, en $\ln x$ et en \sqrt{x} ; FIB : distribution gaussienne en Box-Cox et en $1/x$).
- La distribution du TQ est restée significativement différente d'une distribution gaussienne après toutes les transformations testées (*i.e.* $\ln x$, $1/x$, \sqrt{x} et transformation de Box-Cox). Le meilleur compromis pour le TQ a été obtenu par la transformation Box-Cox (test d'Anderson-Darling, $p=0,014$).

Une partition en fonction du sexe n'était pas appropriée, selon les critères de Harris et Boyd, même si les valeurs d'AT étaient significativement plus basses chez les mâles que chez les femelles (test de Student après avoir vérifié l'homogénéité des variances, $p=0,002$) avec respectivement 136 et 147%.

Il n'y avait pas assez de valeurs dans chaque sous-groupe pour faire des partitions selon l'âge ou la race.

Tableau 8: Caractéristiques de la distribution des 4 analytes chez 139 chiens sains (moyenne, minimum et maximum, normalité évaluée avec le test d'Anderson-Darling, transformation qui correspond la mieux à la distribution gaussienne) ; calculs effectués à partir de la moyenne des résultats de chaque doublon.

	TQ (s)	TCA (s)	FIB (g/L)	AT (%)
Nombre de spécimens	139	139	139	139
Moyenne	7,7	15,0	2,26	143
Médiane	7,7	14,9	2,08	142
Minimum-Maximum	6,8-9,9	12,8-17,4	1,09-5,18	96-192
Ecart-type	0,555	0,997	0,777	20,210
Normalité, p	<0,000 1	=0,040 6	<0,000 1	=0,58
Meilleure correspondance gaussienne	-	Box-Cox > Ln	Box-Cox > $1/n$	Box-Cox

Les intervalles de référence non-paramétriques ainsi déterminés sont [6,9-8,8] s, [13,1-17,2] s, [1,24-4,30] g/L, et [104-188]% pour TQ, TCA, FIB et AT respectivement [Tableau 9].

Tableau 9: Estimations des intervalles de références des 4 analytes chez 139 chiens sains (P : méthode paramétrique ; NP : méthode non-paramétrique ; intervalle de confiance 90% inscrit entre parenthèses)

STA-Satellite	Quantile	0,025 (IC 90%)	0,975 (IC 90%)
TQ (s)	P	ND	ND
	NP	6,9 (6,8 – 7,0)	8,8 (8,6 – 9,9)
TCA (s)	P (Box-Cox)	13,2 (13,0 – 13,4)	17,1 (16,8 – 17,4)
	NP	13,1 (12,8 – 13,5)	17,2 (16,8 – 17,4)
FIB (g/L)	P (Box-Cox)	1,27 (1,21 – 1,34)	4,28 (3,85 – 4,79)
	NP	1,24 (1,09 – 1,43)	4,30 (3,85 – 5,18)
AT (%)	P (Box-Cox)	106 (101 – 110)	185 (179 – 190)
	NP	104 (96 – 110)	188 (178 – 192)

3. DISCUSSION

3.1. Sélection des sujets de la population de référence

Sélectionner un groupe de référence composé d'individus sains conformément à des critères bien définis est la tâche la plus difficile lors de l'établissement des intervalles de référence. La sélection d'un échantillon consiste à choisir des individus de référence aussi comparables que possible aux patients, mis à part leur maladie (donc pour l'âge, le sexe, les conditions de vie, ...). Dans cette étude, la prévalence des différentes de race de chiens présentes en France a été prise en compte lors du recrutement des individus (races ciblées et nombres de cas théorique par race). Un maximum de 5 chiens d'une même race par élevage a été fixé arbitrairement, afin de prévenir un effet « élevage » (parenté, conditions d'élevage, alimentation, etc.).

On déplore toutefois 3 biais.

- Le premier vient du fait que seules des races pures aient été échantillonnées dans cette étude prospective. Ce choix arbitraire a été basé sur le fait que les prévalences et les types de croisés ne sont pas rapportés dans la littérature à notre connaissance. De plus, les croisements reflètent un mélange de plusieurs races et il peut donc être supposé que les valeurs chez ces chiens croisés s'étalent entre les valeurs obtenues pour les chiens de pure race.
- Le second biais est le ratio femelle/mâle, proche de 2 dans le groupe de référence. Cette constatation résulte du choix de prélever les chiens directement chez les éleveurs. Ce ratio est plus important que ce qui est rapporté communément dans la population canine, néanmoins aucune partition en fonction du sexe n'a été établie (test d'Harris et Boyd).
- Le dernier biais de recrutement est lié au territoire de collecte. Compte tenu des résultats de stabilité des spécimens obtenus dans l'étude préliminaire, le temps de

trajet des spécimens pour rejoindre le Laboratoire et leur analyse a été pris en compte. Tous les spécimens ont ainsi été collectés chez des éleveurs situés à moins de 200km du Laboratoire. La dispersion des principales populations canines françaises semble néanmoins assez homogène (aucune donnée en contradiction dans la littérature à notre connaissance). Il est de ce fait probable que ce biais d'échantillonnage « géographique » ait eu très peu d'effets sur la détermination des intervalles de référence.

Les intervalles de confiance à 90% des limites de référence par une méthode non paramétrique se déterminent à l'aide de 120 sujets. 139 chiens ont été inclus dans cette étude, soit 19 supplémentaires aux prévisions initiales du protocole. En biologie médicale humaine, les intervalles de référence sont associés à des intervalles de confiance à 95% ; ils nécessitent alors l'inclusion de 153 sujets²³. Nos résultats sont toutefois particulièrement satisfaisants, en comparaison avec d'autres études publiées (étude de Gerber *et al.*⁴ : 43 chiens ; étude de Tsenget *al.*²⁷ : 27 chiens en bonne santé) et ont été obtenus selon les recommandations internationales par une méthode non paramétrique³¹.

Les objectifs de nombre de sujets inclus par race prévus par le protocole ont servi de support pour le choix des éleveurs à démarcher en début d'étude. Les spécimens ont ensuite été collectés en fonction des disponibilités des différents acteurs.

Des races proches en termes d'aptitudes (pointers échantillonnés au lieu des setters) ont ainsi été préférées. De même, chez les éleveurs « multi-races », toutes les races mentionnées dans le protocole (y compris celles ne figurant pas dans les objectifs) ont été prélevées.

Lorsque les éleveurs possédaient plus de cinq chiens d'une même race répondant aux critères d'inclusion du protocole, deux à trois chiens supplémentaires étaient prélevés. Après analyse, seuls 5 des spécimens pour une race et pour un élevage étaient inclus, choisis au hasard.

Les chiens prélevés étaient de parenté la plus éloignée possible au sein d'un élevage ou d'élevages inclus dans l'étude.

3.2. Les facteurs pré-analytiques

Le contrôle des facteurs pré-analytiques est essentiel pour minimiser leur effet éventuel sur les résultats chiffrés et donc sur l'interprétation clinique.

Les conditions pré-analytiques de cette étude ont été choisies selon les recommandations établies en biologie clinique humaine et vétérinaire pour la collecte et la manipulation des prélèvements sanguins^{8, 23} et selon les recommandations faites pour les tests de coagulation en pathologie clinique humaine^{17, 28} (lorsqu'elles étaient transposables au chien).

Ces conditions sont utilisées en routine en biologie médicale vétérinaire, bien qu'à notre connaissance, elles n'aient pas été validées, à l'exception de certains points :

- L'absence d'effet significatif de la concentration en citrate entre 3,2% et 3,8%¹³ ;
- L'absence d'effet d'échantillonnage par ponction directe de la veine ou via un cathéter¹¹ ;
- L'effet significatif de la couleur anormale du plasma¹⁴ ;
- L'effet significatif de la déshydratation¹⁵.

3.3. Stabilité des analytes étudiés

D'après la littérature et les manipulations préliminaires, TQ, TCA et FIB restent quasiment inchangés dans le plasma canin citraté jusqu'à 2 jours stocké à température ambiante ou à +4°C² ; ce qui est, en remarque, plus long que le délai recommandé pour les spécimens humains³⁰. Les durées de stockage testées dans cette étude ont été choisies pour correspondre aux conditions de la manipulation, où des prélèvements de sang collectés chez les éleveurs arrivent au laboratoire d'ordinaire en moins de 4 heures, et dans quelques cas, jusqu'à 6 heures après collecte. Ces conditions ont l'avantage de correspondre également à ce qui pourra être fait en routine : analyse du prélèvement dans la journée, et/ou possibilité de conserver le plasma citraté jusqu'au lendemain au réfrigérateur à +4°C.

D'après les résultats de l'étude préliminaire de stabilité, les résultats de TQ, FIB et AT ne sont pas modifiés jusqu'à 6 heures de stockage à 4°C. Le résultat du TCA peut en revanche être modérément augmenté mais cette modification n'excède pas l'intervalle de confiance 90% des limites de référence et ne devrait donc pas avoir de signification clinique. Cet analyte a de ce fait été inclus dans l'étude.

Au final, l'évaluation de la stabilité après 36 heures de stockage n'a pas été nécessaire pendant la réalisation de cette étude. Elle avait été réalisée dans la perspective d'un problème technique.

3.4. Détermination des intervalles de référence

La détermination des intervalles de référence a été réalisée, selon les recommandations de l'IFCC-CLSI²², par une méthode non paramétrique³¹. Celle-ci est réalisable dans la mesure où le nombre total d'individus de référence est supérieur à 120 et que seul un très faible nombre de valeurs aberrantes est mis en évidence sur les distributions initiales ou transformées. « L'accent doit être mis sur le maintien plutôt que sur la suppression (*i.e.* des outliers) »³¹. Une détermination complète des intervalles de référence aurait dû être réalisée en groupant les individus selon l'âge, le sexe ou la race des animaux, mais cela implique que 120 individus *a minima* pour chaque groupe de partition auraient dû être recrutés, ce qui aurait représenté un travail énorme et coûteux.

A l'exception de l'AT, les distributions de référence étaient statistiquement différentes d'une distribution gaussienne, ce qui pourrait expliquer les petites différences avec les valeurs précédemment rapportées dans la littérature pour les tests de coagulation chez le chien, ces dernières ont été principalement fondées sur des approches paramétriques (à conditions d'étude équivalentes).

Les intervalles de référence déterminés dans cette étude sont relativement proches de ceux décrits par le passé, excepté toutefois pour l'AT. Cette observation est imputable à la calibration des techniques. En effet, dans plusieurs études, des chiens contrôle étaient

utilisés pour déterminer « la norme », *i.e.* 100% d'activité ; ensuite les mesures étaient comparées à ces calibrations. Dans d'autres études, dont celle-ci, la calibration était au contraire fondée sur l'utilisation de solutions de contrôle humaines. Or l'utilisation des calibrations humaines a deux conséquences majeures : elle produit certes un biais, mais il en résulte probablement une meilleure transférabilité des résultats, étant donné qu'aucune solution de contrôle canine n'existait sur le marché à notre connaissance, alors que les solutions humaines étaient facilement disponibles et comparables dans tous les cas.

De plus, il a été rapporté que des différences significatives dans les résultats des tests de coagulation pourraient être imputables à l'utilisation de réactifs différents, particulièrement pour le TCA. Cela renforce l'idée que chaque laboratoire devrait déterminer ses propres intervalles de référence dans les conditions qui lui sont spécifiques. Cependant, de telles déterminations sont souvent réalisées à partir de petits échantillons, pour lesquels les conjectures de distribution sous-jacente sont malheureusement invérifiables. D'après l'IFCC-CLSI, « les laboratoires individuels devraient davantage se focaliser sur la vérification d'intervalles de référence établis « ailleurs » »³¹. Dans le cas présent, les limites de référence, déterminées avec un nombre suffisant de chiens, par la méthode non-paramétrique, peuvent être utilisées pour la validation d'études relevant d'un nombre limité de spécimens, comme indiqué par l'IFCC-CLSI²¹.

Le transfert des intervalles de référence de l'analyseur STA-Satellite à un autre analyseur de coagulation est une méthode alternative mais néanmoins recommandée par l'IFCC-CLSI lorsque les populations de référence peuvent être supposées identiques.

Le transfert de ces intervalles a été réalisé pour l'analyseur STA-R Evolution (Diagnostica Stago)³³. On note cependant quelques différences dans les résultats obtenus par les deux analyseurs, notamment pour l'AT, qui doit conduire à utiliser un intervalle de référence différent pour cette variable³³.

3.5. Méthodes de détermination d'un intervalle de référence

L'objectif de la détermination de valeurs de référence est de fournir une base solide pour l'interprétation des résultats de laboratoire obtenus en routine pour des examens complémentaires inclus dans une démarche diagnostique. Les résultats cliniques doivent de ce fait être comparables aux valeurs de référence ; ce qui sous-entend qu'ils aient été réalisés dans les mêmes conditions.

Dans notre étude, les conditions de prélèvements ne sont pas exactement celles rencontrées en pratique car elles n'ont pas été réalisées en milieu hospitalier (stress d'un lieu étranger, absence du propriétaire lors du prélèvement, ...) ; mais il n'aurait pas été possible de trouver un échantillon de chiens de pure race en bonne santé, en si peu de temps, dans un unique centre hospitalier ; or les intervalles de référence pour le nouvel analyseur nécessitaient d'être connues rapidement ; condition *sine qua non* à l'interprétation des résultats des examens. Il sera toujours possible par la suite d'effectuer des tests de variabilité entre les deux conditions de prélèvement, sachant que la variabilité intra-chien est minime, testée sur quelques semaines¹⁵.

L'établissement d'intervalles de référence *a posteriori* est également une possibilité. Cette détermination utilise les bases de données de laboratoires d'hôpitaux²⁴ et présente de ce fait deux avantages : un gain de temps et d'argent ; et des intervalles de référence adaptés à la population qui fréquente l'hôpital. Or les résultats d'examens effectués en hôpital ont été obtenus lors d'investigations, ce qui sous-entend bien que l'animal n'était pas cliniquement sain. On assiste parfois à des dérives importantes avec les études *a posteriori*²³. Le mieux serait en fait que les données de laboratoire soient combinées avec les informations cliniques de chaque patient²⁴, ainsi on serait plus en mesure de choisir un groupe d'individus qui remplissent les critères cliniques et une telle procédure serait en accord avec les recommandations approuvées de l'IFCC-CLSI. Ce type d'approche pourrait être à envisager si, dans un futur plus ou moins proche, on souhaite déterminer des intervalles de référence, pourquoi pas pour ces mêmes analytes, chez une espèce plus délicate à manipuler ou à appréhender, comme le chat par exemple.

3.6. Effet de l'âge, de la race et du sexe du chien

Les animaux de référence utilisés dans cette étude étaient pour la plupart de jeunes adultes, avec 85% de l'effectif compris entre 1 et 8 ans. Ceci a rendu le partitionnement en fonction de l'âge impossible, étant donné le faible nombre de très jeunes ou de vieux animaux. De plus, le fait de qualifier un animal de jeune ou de vieux n'a de sens qu'en tenant compte de sa race. Les races de grand format sont en effet considérées comme adultes à l'âge de 15 mois alors que les races de petit format terminent leur puberté vers l'âge de 9 mois⁷. A l'opposé, les races de grands formats sont considérées comme des séniors, voire des patients gériatriques plus tôt que les petits chiens¹². L'ensemble de ces éléments empêche de tirer des conclusions pertinentes dans cette étude quant à l'effet de l'âge sur la coagulation.

En ce qui concerne la race, le nombre limité de données disponibles par race dans cette expérimentation empêche toute étude statistique pertinente sur l'influence de la race sur les analytes observés.

Concernant l'effet du sexe des animaux sur la coagulation, l'influence sur les intervalles de référence est très faible, ainsi que le montre le test de Harris et Boyd, comme cité précédemment au sujet du ratio mâles/femelles.

CONCLUSION

Alternative au concept ambigu qu'est la valeur « normale », les intervalles de référence ont été définis pour décrire les variations de mesures de concentration d'analytes sanguins dans un groupe d'individus bien caractérisés. Pour chaque nouvel analyseur, des intervalles de référence propres devraient être attribués, soit par transfert de données à partir d'anciens analyseurs, soit par validation d'intervalles de référence préexistants. Dans le cas où les deux procédés cités ne peuvent toutefois pas être appliqués, de nouveaux intervalles de référence doivent être établis en suivant les recommandations internationales de l'IFCC-CLSI³¹.

Cette étude sur 139 chiens de pure race, représentative de la population canine française, détermine les intervalles de référence chez le chien du TQ, du TCA, du FIB et de l'AT, par une méthode non-paramétrique selon les recommandations de l'IFCC-CLSI³¹.

Le transfert de ces intervalles de référence à d'autres laboratoires, après validation des résultats, et à d'autres analyseurs est donc possible et recommandé par l'IFCC-CLSI pour une population canine équivalente. Le transfert à l'analyseur STA-R a d'ailleurs constitué la suite de cette étude³³.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussignée, **Cathy TRUMEL**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **HANOT Camille** intitulée « *Détermination d'intervalles de référence des bilans d'hémostase de routine chez le chien sain déterminés avec un analyseur STA-SATELLITE (diagnostic STAGO) : Etude expérimentale* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

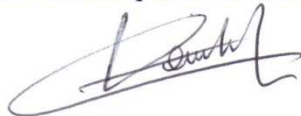
Fait à Toulouse, le 19 Avril 2012
Professeure Cathy TRUMEL
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse




Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON



Vu :
Le Président du jury :
Professeure Monique COURTADE SAÏDI



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université, **27 AVR. 2012**
Paul Sabatier
Professeur Gilles FOURTANIER



Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. DYBKAER, R. ; SOLBERG, H.E.
International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).The theory of reference values.
Part 6. Presentation of observed values related to reference values.
Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 1982, 20:841-5.
2. FURLANELLO, T. ; CALDIN, M. ; STOCCO, A. *et al.*
Stability of stored canine plasma for hemostasis testing.
Veterinary Clinical Pathology, 2006, 35:204-207.
3. GEFRE, A. ; FRIEDRICHS, K. ; HARR, K. ; CONCORDET, D. ; TRUMEL, C. ; BRAUN, J.P.
Reference values: a revue.
Veterinary Clinical Pathology, 2009, 38/3, 288-98.
4. GERBER, B. ; TABOADA, J. ; LOTHROP, C.D. ; BUSATO, A. ; HOSGOOD, G. ; GOODMAN, S.A.
; GASCHEN, F.P.
Determination of normal values using an automated coagulation timer for activated
coagulation time and its application in dogs with hemophilia.
Journal of Veterinary Internal Medicine, 1999, 13:433-36.
5. GRASBECK, R. ; SARIS, N.E.
Establishment and use of normal values.
Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 1969, 26(Suppl 110): 62–
63.
6. HARRIS, E.K. ; BOYD, J.C.
On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clinical
Chemistry*.1990, 36(2):265-270.
7. HAWTHORNE, A.J.; BOOLES, D. ; NUGENT, P.A.; GETTINBY, G.; WILKINSON, J.
Body-weight changes during growth in puppies of different breeds.
Journal of Nutrition, 2004, 134(8 Suppl):2027S-2030S.
8. JAIN, N.C.
Examination of the blood and bone marrow.
Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea &Febiger; 1993:1-18.
9. JENSEN, A.L.; KJELGAARD-HANSEN, M.
Method comparison in the clinical laboratory.
Veterinary Clinical Pathology, 2006, 35:276-286.
10. Société Centrale Canine. Livre des Origines Françaises. Disponible sur :
<http://www.scc.asso.fr/mediatheque/statistiques> (consulté en janvier 2008)

11. MAECKELBERGH, V.A. ; ACIEMO, M.J.
Comparison of prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and fibrinogen concentration in blood samples collected via an intravenous catheter versus direct venipuncture in dogs.
American Journal of Veterinary Research, 2008, 69:868-873.
12. METZGER, F.L.
Senior and geriatric care programs for veterinarians.
Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice, 2005, 35(3):743-53.
13. MORALES, F. ; COUTO, C.G. ; IAZBIK, M.C.
Effects of 2 concentrations of sodium citrate on coagulation test results, von Willebrand factor concentration, and platelet function in dogs.
Journal of Veterinary Internal Medicine, 2007, 21:472-75
14. MORENO, P. ; GINEL, P.J.
Effects of haemolysis, lipaemia and bilirubinaemia on prothrombin time, activated partial thromboplastin time and thrombin time in plasma samples from healthy dogs.
Research in Veterinary Science, 1999, 67:273-78
15. O'BRIEN, S.R. ; SELLERS, T.S. ; MEYER, D.J.
Artifactual prolongation of the activated partial thromboplastin time associated with hemoconcentration in dogs.
Journal of Veterinary Internal Medicine, 1995, 9:169-70.
16. PETITCLERC, C. ; SOLBERG, H.E.
International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values.
Part 2. Selection of individuals for the production of reference values.
Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 1987, 25:639-44.
17. POLACK, B. ; SCHVED, J.F. ; BONEU, B.
Preanalytical recommendations of the 'Groupe d'Etude sur l'Hemostase et la Thrombose' (GEHT) for venous blood testing in hemostasis laboratories.
Haemostasis, 2001, 31:61-68.
18. RIZZO F, PAPASOULIOTIS K, CRAWFORD E, DODKIN S, CUE S.
Measurement of prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) on canine citrated plasma samples following different storage conditions.
Research in Veterinary Science, 2008, 85(1):166-70.
19. SOLBERG, H.E.
International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values, and International Committee for

Standardization in Haematology (ICSH), Standing Committee on Reference Values. Approved Recommendation (1986) on the theory of reference values.

Part 1. The concept of reference values.

Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 1987, 25:337-42.

20. SOLBERG, H.E. ; PETITCLERC, C.

International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values.

Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values.

Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 1988, 26:593-8.

21. SOLBERG, H.E. ; STAMM, D.

International Federation of Clinical Chemistry IFCC. IFCC recommendation--theory of reference values.

Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values.

European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 1991, 29:531-5.

22. SOLBERG, H.E.

International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values.

Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference values.

Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 1987, 25:645-56.

23. SOLBERG, H.E. (in BURTIS, C.A. ; ASHWOOD, E. R.)

Establishment and use of reference values.

Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition, Philadelphia: WB Saunders Co, III-14, 336-56

24. SOLBERG, H.E.

Using a hospitalized population to establish reference intervals: pros and cons.

Clinical Chemistry, 1994, 40/12, 2205-2206.

25. STEFANON, B. ; STEFANON, G. ; RIGHI, E. ; STEFANON, G.

Reference values for some fundamental haemostatic factors in the dog.

Pol Arch Weter. 1991, 31:29-38.

26. Reference Value advisor : freeware, <http://www.biostat.envt.fr/spip/spip.php?article63>

27. TSENG, L.W. ; HUGHES, D. ; GIGER, U.

Evaluation of a point-of-care coagulation analyzer for measurement of prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and activated clotting time in dogs.

American Journal of Veterinary Research, 2001, 62/9:1455-60.

28. WAYNE, P.A.
User verification of performance for precision and trueness; Approved guideline.
Second edition
CLSI 2005.
29. WAYNE, P.A.
Method comparison and bias estimation using patient samples.
NCCLS, 2002, Approved guideline - Second edition., vol. EP9-A2 NCCLS.
30. WAYNE, P.A.
Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based
coagulation assays and molecular hemostasis assays; Approved guideline - Fifth edition.
CLSI, 2003, H21-A5
31. WAYNE, P.A.
Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory;
Approved Guideline.
Clinical and Laboratory Standards Institute.3rd edition CLSI, 2008, Document C28-A3.
32. WIINBERG, B.; JENSEN, A.L.; KJELGAARD-HANSEN, M. et al.
Study on biological variation of haemostatic parameters in clinically healthy dogs.
The Veterinary Journal, 2007, 174:62-68.

Article paru

33. GEFFRE, A. ; GROLLIER, S. ; HANOT, C. ; VERGEZ, F. ; TRUMEL, C.; BRAUN, J.P.
Canine reference intervals for coagulation markers using the STA-Satellite and the STA-R
analyzers.
Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2010, 22/5 : 690-695.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Etude préliminaire : test de précision de l'analyseur STA-Satellite (Diagnostica Stago) et stabilité du TQ, du TCA, du FIB et de l'AT

ANNEXE 2 : Protocole de l'étude concernant la détermination des intervalles de référence de TQ, TCA, AT et FIB chez le chien par l'analyseur STA-Satellite (Diagnostica Stago)

ANNEXE 3 : Présentation du projet aux élèves

ANNEXE 4 : Fiche de consentement à l'attention des élèves

ANNEXE 5 : Fiche d'examen clinique

ANNEXE 6 : Résultats bruts de l'étude de détermination des intervalles de référence

ANNEXE 1 : Etude préliminaire : test de précision de l'analyseur STA-Satellite (Diagnostica Stago) et stabilité du TQ, du TCA, du FIB et de l'AT.

1. Test de précision selon la procédure CLSI n°EP-15-A2

Cette étude a été faite conformément au protocole CLSI EP 15-A2,

- En répétant les analyses en double, matin et après-midi, pendant au moins 5 jours ;
- En utilisant des solutions de contrôle.

Il n'existe toutefois pas de solution de contrôle pour plasma canin. Les solutions de contrôles proposées par le fabricant pour les Laboratoires de biologie humaine ont donc été utilisées (Coag Control N et P).

Les mesures de TQ, TCA, FIB et AT ont été effectuées en doublons pour ces deux solutions de contrôle, matin et soir, pendant 5 jours consécutifs.

Les coefficients de variation inter-chiens (CVg) ont été calculés d'après les résultats de l'étude sur la détermination des intervalles de référence.

Les coefficients de variation intra-chiens (CVi) sont tirés d'une étude de Wiinberg³².

1.1. Imprécision

L'imprécision a été calculée pour chaque analyte.

✓ Résultats des calculs d'imprécision pour le TQ

	TQ N (s)		TQ P (s)	
Moyenne	13,8		25,4	
Précision	SD	CV	SD	CV
Totale	0,27	1,9 %	0,98	3,9%
Répétabilité	0,14	1,0 %	0,35	1,4%
Inter-séries	0,12	0,9 %	0,18	0,7%
Inter-jours	0,19	1,4 %	0,90	3,6%

✓ Résultats des calculs d'imprécision pour le TCA

	TCA N (s)		TCA P (s)	
Moyenne	28,8		52,1	
Précision	SD	CV	SD	CV
Totale	0,36	1,3%	0,51	1,0%
Répétabilité	0,18	0,6%	0,14	0,3%
Inter-séries	0,27	0,9%	0,49	0,9%
Inter-jours	0,16	0,6%	0,00	0,0%

✓ Résultats des calculs d'imprécision pour le FIB

	FIB N (g/L)		FIB P (g/L)	
Moyenne	2,97		1,03	
Précision	SD	CV	SD	CV
Totale	0,169	5,7%	0,071	6,9%
Répétabilité	0,090	3,0%	0,067	6,5%
Inter-séries	0,102	3,4%	0,018	1,7%
Inter-jours	0,102	3,4%	0,016	1,6%

✓ Résultats des calculs d'imprécision pour l'AT

	AT N (%)		AT P (%)	
Moyenne	106		42	
Précision	SD	CV	SD	CV
Totale	3,9	3,7%	2,2	5,1%
Répétabilité	1,6	1,5%	0,8	1,8%
Inter-séries	2,2	2,1%	0,3	0,7%
Inter-jours	2,9	2,7%	2,0	4,7%

1.2. Inexactitude

L'inexactitude a été déterminée en fonction des cibles fournies par le fabricant pour les solutions de contrôle « N » et « P » en comparant la valeur moyenne globale obtenue pour chaque analyte.

	TQ (s)		TCA (s)		FIB (g/L)		AT (%)	
	N	P	N	P	N	P	N	P
Cible	11,5 - 15,5	19,0 – 27,0	24,0 – 34,0	43,0 – 59,0	2,70 - 3,80	0,90 - 1,40	93 - 125	32 - 50
Cible moyenne	13,5	23	29	51	3,25	1,15	109	41
Moyenne mesurée	13,81	25,35	28,83	52,05	2,968	1,026	105,8	42,3
Inexactitude	-0,31	-2,35	0,17	-1,05	0,28	0,12	3,20	-1,30
Inexactitude(%)	-2,3	-10,2	0,6	-2,1	8,7	10,8	2,9	-3,2

Les conditions minimales de performance analytiques n'ont pas été remplies pour la précision du TQ et de l'AT, ni pour l'exactitude du TQ pour le plasma de contrôle « P ».

Les biais étaient étroits, excepté pour le TQ pour la solution contrôle « P » et pour le FIB (plus de 10,8% de biais bien que demeurant dans les intervalles de performance requis). Les coefficients de variation intra-chiens déterminés dans l'étude de Wiinberg³² semblent toutefois très faibles et nécessiteraient d'être contrôlés dans une étude ultérieure.

1.3. Répétabilité

La répétabilité de l'analyseur STA-Satellite a été évaluée à partir des résultats obtenus en doublons avec les spécimens de l'étude, soit 139 chiens.

Les coefficients de variation de la répétabilité de l'analyseur STA-Satellite (Diagnostica Stago) étaient similaires, voire légèrement supérieurs à ceux indiqués par le fabricant.

1.4. Résumé des performances analytiques

Les performances analytiques de l'analyseur STA-Satellite (Diagnostica Stago) au Laboratoire Central de Biologie Médicale de l'ENVT, comparées aux données du fabricant, sont résumées ci-dessous.

	TQ (s)		TCA (s)		FIB (g/L)		AT (%)	
DONNÉES DU FABRICANT								
Solutions de contrôle humaines	N	P	N	P	N	P	N	P
CV précision intra-laboratoire (n=10)	1.5%	1.6%	1.4%	0.9 %	2.0%	3.7%	4.8%	5.0%
	15.1 s	29.4 s	29.8 s	48.0 s	2.72 g/L	1.36 g/L	105%	46%
CV répétabilité (n=21)	0.7%	0.5%	0.6%	0.8%	2.9%	2.5%	2.6%	5.0%
	13.6 s	22.7 s	29.8 s	47.2 s	3.07 g/L	1.24 g/L	105 %	46 %
DONNÉES DU LABORATOIRE								
<i>Solutions de contrôle humaines</i>	N	P	N	P	N	P	N	P
Moyenne mesurée	13.8s	25.4s	28.8s	52.1s	3.0g/L	1.0g/l	106%	42%
Imprécision totale (%) (n = 20)	1,9%	3,9%	1,3%	1,0%	5,7%	6,9%	3,7%	5,1%
Performance minimale 0,75 x CV _i	1,0	1,0	14,6	14,6	9,8	9,8	0,9	0,9
Performance désirée 0,5 x CV _i	0,7	0,7	9,7	9,7	6,5	6,5	0,6	0,6
Performance optimale 0,25 x CV _i	0,4	0,4	4,9	4,9	3,3	3,3	0,3	0,3
Inexactitude (valeur absolue, %) (n = 20)	2,3%	10,2%	0,6%	2,1%	8,7%	10,8%	2,9%	3,2%
Performance minimale $0,375 \times [(CV_i)^2 + (CV_g)^2]^{0,5}$	2,8	2,8	7,7	7,7	13,8	13,8	5,3	5,3
Performance désirée $0,25 \times [(CV_i)^2 + (CV_g)^2]^{0,5}$	1,8	1,8	5,1	5,1	9,2	9,2	3,5	3,5
Performance optimale $0,125 \times [(CV_i)^2 + (CV_g)^2]^{0,5}$	0,9	0,9	2,6	2,6	4,6	4,6	1,8	1,8
Spécimens canins								
Répétabilité (%) (n = 139)	0.6%		1.0%		2.3%		1.3%	
	moy = 7.7s		moy = 15.0s		moy = 2.3 g/L		moy = 143%	

2. Stabilité des analytes

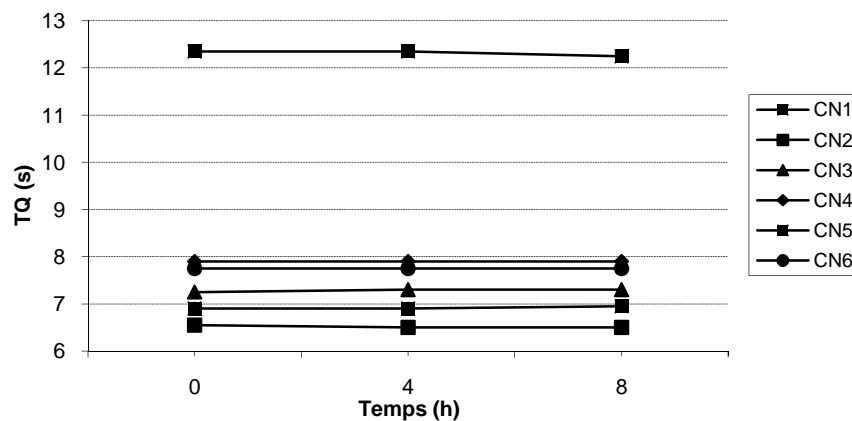
2.1. Essai de stabilité du sang citraté total canin à 4°C avant centrifugation jusqu'à 8 heures

Le but de cette étude préliminaire était de s'assurer de la stabilité pendant 8 heures des mesures de TQ, TCA, fibrinogène et antithrombine dans le sang total citraté conservé à 4°C.

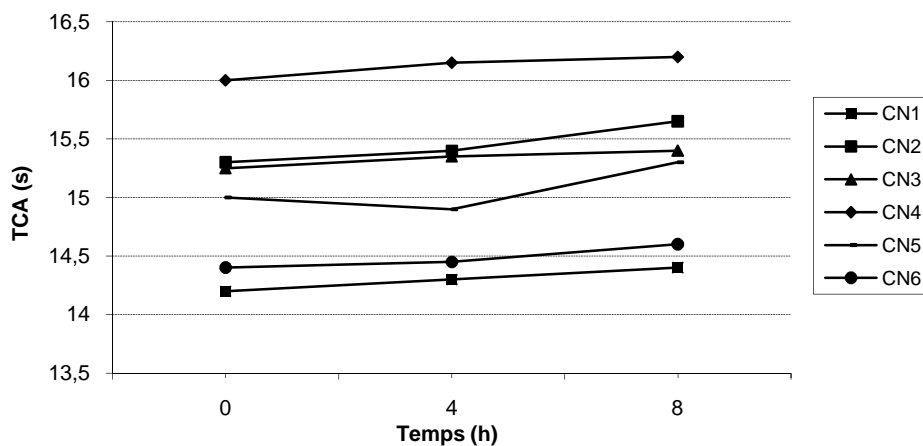
Les mesures du TQ, TCA, FIB et AT à moins d'une heure, à 4 heures et à 8 heures après prélèvement ont été réalisées en doublon à partir de 6 chiens.

Les résultats sont indiqués dans les graphiques suivants, dans lesquels chaque point correspond à la moyenne des analyses réalisées en double.

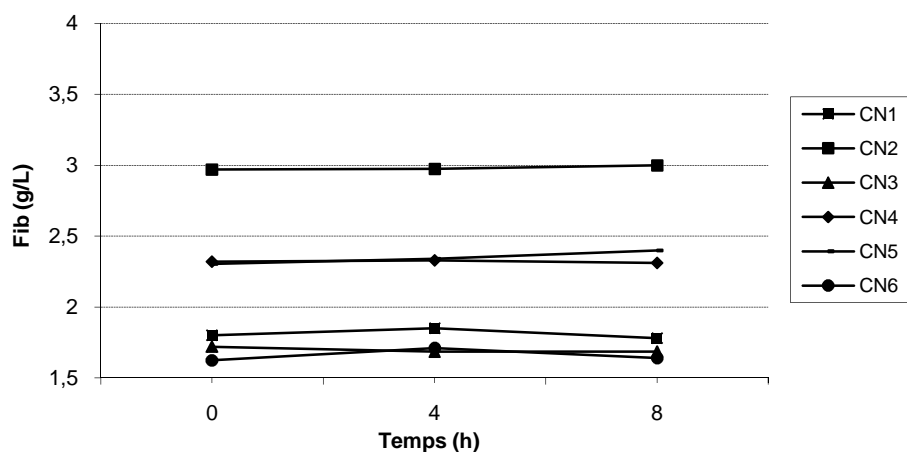
✓ Représentation graphique de la stabilité pour le TQ (sang total)



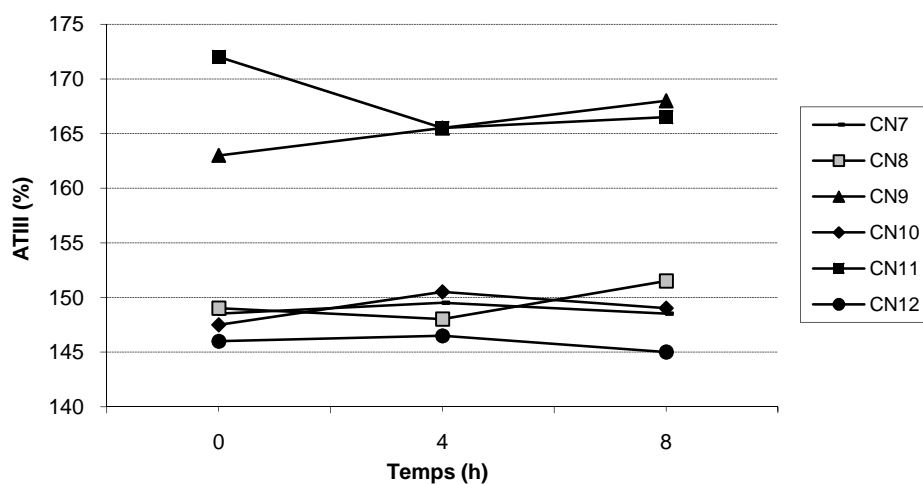
✓ Représentation graphique de la stabilité pour le TCA (sang total)



✓ Représentation graphique de la stabilité pour le FIB (sang total)



✓ Représentation graphique de la stabilité pour l'AT (sang total)



A l'exception de la répétabilité, les résultats suivants ont été calculés à partir de la moyenne des résultats des analyses réalisées en double :

	TQ (s)	TCA (s)	FIB (g/L)	AT (%)
Moyenne mesurée	8,1	15,1	2,14	154
Mini-Maxi mesurés	6,5 – 12,5	14,1 – 16,2	1,62 – 3,01	144 - 173
Répétabilité (%)	0,8	0,6	2,2	0,9
CV individuel moyen (%)	0,3	0,9	1,5	1,1
CV individuel Mini-Maxi (%)	0,0 - 0,5	0,5 – 1,4	0,4 – 2,7	0,4 – 2,1

Pour comparaison, les CV de la reproductibilité inter-essais intra-jour effectuée précédemment avec des solutions de contrôle ont été :

		TQ (s)		TCA (s)		FIB (g/L)		AT (%)	
Cible		13,8	25,4	28,8	52,1	2,97	1,03	106	42
CV (%)		0,9	0,7	0,9	0,9	3,4	1,7	2,1	0,7

		Différence entre valeur initiale et valeur mesurée à 4 h et à 8 h		Test de Wilcoxon en séries appariées	
		0 - 4	0 - 8	0 - 4	0 - 8
TQ (s)	Médiane	0	0	NS	NS
	Minimum	0,05	0,1		
	Maximum	-0,05	-0,05		
TCA (s)	Médiane	-0,1	-0,2	NS	P = 0,03
	Minimum	0,1	-0,15		
	Maximum	-0,15	-0,35		
FIB (g/L)	Médiane	-0,0225	-0,0025	NS	NS
	Minimum	0,035	0,035		
	Maximum	-0,085	-0,095		
AT (%)	Médiane	-0,75	-0,75	NS	NS
	Minimum	6,5	5,5		
	Maximum	-3	-5		

En bilan, les variations observées n'ont pas excédé ce que l'on pouvait attendre de la variabilité analytique. Par conséquent, on peut raisonnablement estimer que les analytes mesurés sont stables dans du sang total citraté stocké au réfrigérateur à 4°C pendant 8 heures avant centrifugation, à l'exception du TCA (le prélèvement doit être centrifugé dans un délai n'excédant pas 4 heures suivant le prélèvement).

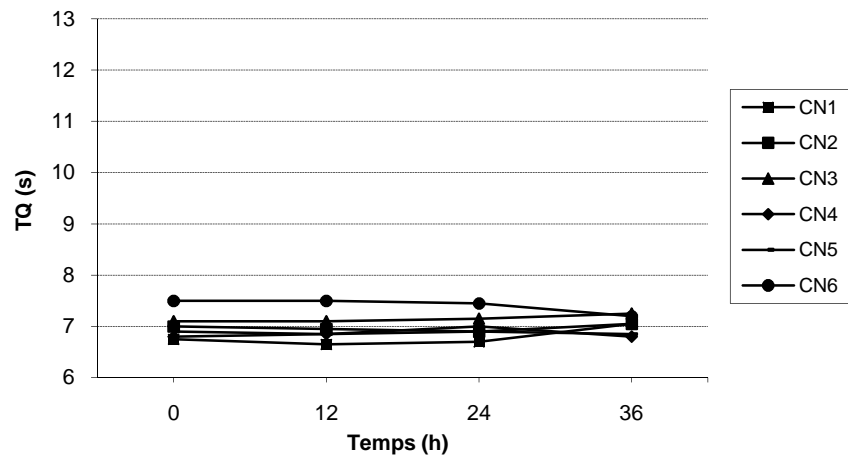
2.2. Essai de stabilité du plasma citraté canin à 4°C jusqu'à 36 heures

Le but de cette étude préliminaire était de s'assurer de la stabilité pendant 36 heures des mesures de TQ, TCA, fibrinogène et antithrombine dans le plasma citraté conservé à 4°C.

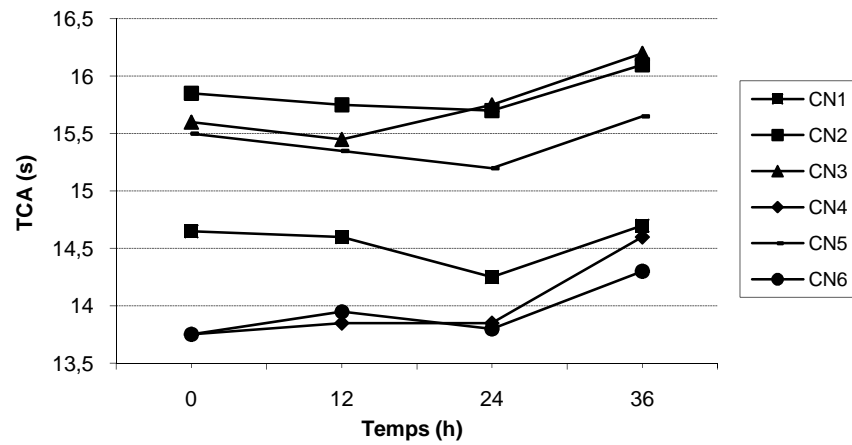
Les mesures du TQ, TCA, FIB et AT à moins d'une heure, à 12 heures, à 24 heures et à 36 heures après prélèvement ont été réalisées en doublon à partir de 6 chiens.

Les résultats sont indiqués dans les graphiques suivants, dans lesquels chaque point correspond à la moyenne des analyses réalisées en double.

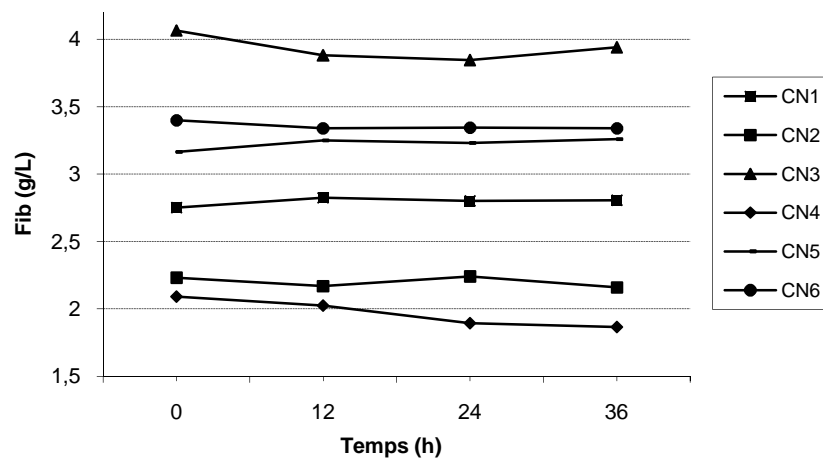
✓ Représentation graphique de la stabilité pour le TQ (plasma)



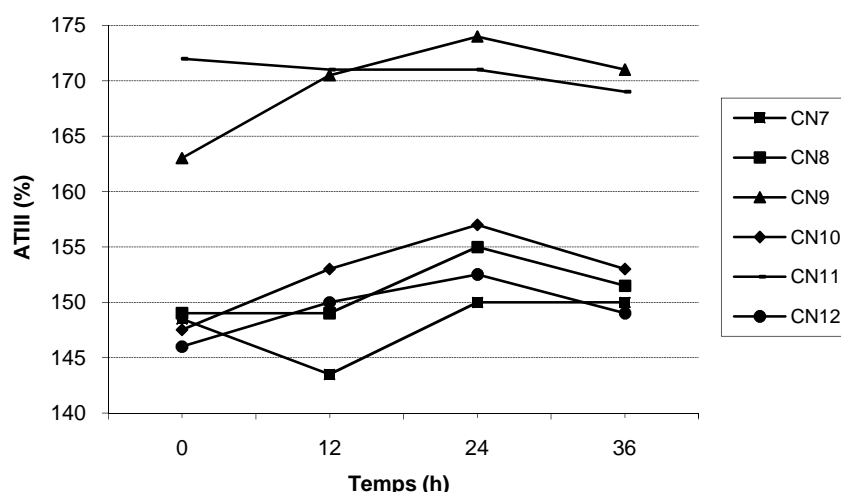
✓ Représentation graphique de la stabilité pour le TCA (plasma)



✓ Représentation graphique de la stabilité pour le FIB (plasma)



✓ **Représentation graphique de la stabilité pour l'AT (plasma)**



A l'exception de la répétabilité, les résultats suivants ont été calculés à partir de la moyenne des résultats des analyses réalisées en double :

	TQ (s)	TCA (s)	FIB (g/L)	AT (%)
Moyenne mesurée	7,0	14,9	2,91	157
Mini-Maxi mesurés	6,6 – 7,5	13,6 – 16,2	1,85 – 4,08	143 - 174
Répétabilité (%)	1,2	1,1	2,2	1,1
CV individuel moyen (%)	1,4	1,7	2,2	2,0
CV individuel Mini-Maxi (%)	0,4 – 2,6	1,1 – 2,8	0,9 – 5,4	0,7 – 2,8

2.3. Bilan de la stabilité des analytes

Pour chaque analyte et chaque plasma, il a été vérifié que les variations observées au cours du stockage ne dépassent pas ce qui peut être attendu de la variabilité analytique.


L'analyse des données montre que les variations ont été très faibles. Il n'y a en effet pas eu de changement statistiquement significatif entre les valeurs des analytes du sang total citraté stocké jusqu'à 8h et ceux du plasma citraté stocké jusqu'à 36h à 4°C (test de Wilcoxon, avec une correction de Bonferroni pour les comparaisons multiples, $p > 0,05$), à l'exception du TCA qui était légèrement augmenté (<1s) dans le sang total à la 8^{ème} heure de stockage et dans le plasma à la 36^{ème} heure et ce, de manière significative (test de Wilcoxon, $p = 0,03$).

Le tableau suivant résume les différences observées entre les mesures effectuées à chaque échéance et la mesure initiale :

		Différence entre valeur initiale et valeur mesurée à 12 h, à 24 h et à 36 h			Test de Wilcoxon en séries appariées		
		0 - 12	0 - 24	0 - 36	0 - 12	0 - 24	0 - 36
TQ(s)	Médiane	0,025	0,025	-0,025	NS	NS	NS
	Minimum	0,1	0,1	0,3			
	Maximum	-0,05	-0,2	-0,3			
TCA (s)	Médiane	0,075	0,05	-0,4	NS	NS	p = 0,03
	Minimum	0,15	0,4	-0,05			
	Maximum	-0,2	-0,15	-0,85			
FIB (g/L)	Médiane	0,06	0,0225	0,065	NS	NS	NS
	Minimum	0,185	0,22	0,225			
	Maximum	-0,085	-0,065	-0,095			
AT (%)	Médiane	-2	-6,25	-2,75	NS	NS	NS
	Minimum	5	1	3			
	Maximum	-7,5	-11	-8			

En bilan, les variations observées dans les plasmas citratés réfrigérés ont été suffisamment faibles pour que l'on puisse, en cas de nécessité, conserver des plasmas canins dans ces conditions, à l'exception du TCA qui doit être mesuré dans un délai n'excédant pas 24 heures suivant le prélèvement.

ANNEXE 2 : Protocole de l'étude concernant la détermination des intervalles de référence de TQ, TCA, AT et FIB chez le chien par l'analyseur STA-Satellite (Diagnostica STAGO)

	Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France ☎ : +33 561 193 295; mail : a.geffre@envt.fr	Protocole expérimental
DETERMINATION DES INTERVALLES DE REFERENCE DE TQ, TCA, AT ET FIBRINOGENE CHEZ LE CHIEN PAR L'ANALYSEUR STA-SATELLITE (DIAGNOSTICA STAGO)		Préparé par A.G. le 14/01/08 Validé par JPB le 18/01/08

1. Problématique – objectif

Peu d'études ont été publiées sur les intervalles de référence de TQ, TCA, AT et fibrinogène chez le chien [1-3]. Les critères d'inclusions des chiens sélectionnés ainsi que les techniques analytiques ne sont pas toujours clairement détaillés. A notre connaissance, aucune étude n'a porté sur l'analyseur STA-Satellite (Diagnostica Stago).

Le but de cette étude est donc de déterminer les intervalles de référence de TQ, TCA, AT et fibrinogène chez le chien grâce à l'analyseur STA-Satellite en respectant les recommandations de l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) élaborées en médecine humaine pour la production d'intervalles de référence [4-9].

2. Personnes impliquées

L'étude est effectuée et coordonnée par S. Grollier sous la responsabilité de A. Geffré, avec l'assistance de :

- C. Hanot, C. Trumel : prélèvements,
- J.P. Braun, C. Trumel : aspects théoriques,
- C. Germain (F. Palanché le vendredi) : aspects analytiques.

3. Période d'étude

Premier semestre 2008.

4. Protocole expérimental

4.1. Contrôle quotidien du STA-Satellite

Le STA-Satellite est contrôlé chaque matin par C. Germain ou F. Palanché selon le protocole de routine du laboratoire : les mesures de TQ, TCA, Fibrinogène et AT sont contrôlées dans deux échantillons de contrôle recommandés par le fabricant (plasmas humains citratés lyophilisés STA-Coag Control N et STA-Coag Control P), à l'exception du Fibrinogène qui n'est contrôlé qu'au niveau N.

Si une (ou plusieurs) des sept mesures de contrôle est (sont) en dehors des cibles fournies par le fabricant, les diverses opérations correctrices prévues par le fabricant sont mises en œuvre pour s'assurer du bon fonctionnement du dosage jusqu'à résolution du problème et obtention des sept mesures de contrôles dans les cibles.

4.2. Détermination des intervalles de référence

4.2.1. Population

Au moins 120 chiens en bonne santé et à jeun depuis au moins 8h, provenant d'élevages du sud-ouest de la France. La population de référence est définie en fonction de la distribution des effectifs de chaque race de chiens inscrits au Livre des Origines Française (LOF) et se compose approximativement de :

- 9.9% de bergers allemands, soit 12 chiens,
- 6.7% de golden retrievers, soit 8 chiens,
- 6.2% de labradors, soit 8 chiens,
- 5.7% de cavalier king charles, soit 7 chiens,
- 5.3% de Staffordshire terriers américains, soit 7 chiens,
- 4.9% de yorkshire, soit 6 chiens,
- 4.9% d'épagneuls bretons, soit 6 chiens,
- 4.7% de setters anglais, soit 6 chiens,
- 4.3% de cockers spaniel anglais, soit 5 chiens,
- 3.7% de rottweilers, soit 5 chiens,
- 3.7% de bergers belges malinois, soit 5 chiens,
- 3.4% de bouledogues français, soit 4 chiens.

Pour ces 12 races, correspondant aux races les plus représentées au LOF, on essaiera dans la mesure du possible de respecter les effectifs théoriques à inclure dans l'étude.

On prendra ensuite en priorité si possible et dans cet ordre (avec un maximum de 5 chiens par race) : des beaucerons, des bouviers bernois, des beagles, des teckels à poils durs, des west highland white terriers, des shitzu, des boxers, des bergers australiens, des jack russel terriers, des cotons de tuléar, des chiens de cour italien, des caniches, des english springer spaniels, des terre neuves, des braques allemands, des cairn terriers, des dogues allemands, des pointers anglais, des border collies.

Le nombre de mâles est approximativement égal au nombre de femelles pour chaque race. Un maximum de 5 chiens est prélevé par race pour un même élevage. Plusieurs races peuvent éventuellement être prélevées dans un même élevage. Chaque éleveur complète et signe la feuille de consentement présentée en annexe3.

4.2.2. Données concernant chaque chien

Chaque chien sélectionné a priori pour l'étude fait l'objet d'un examen clinique selon les critères présentés en annexe 2. Les chiens sont identifiés de la façon suivante : « Race du chien » plus un numéro allant de 1 à x.

Sont exclus de l'étude :

- Les animaux ayant présenté des signes cliniques durant le mois précédent,
- Les animaux ayant des antécédents de saignement anormalement longs lors du changement de dents, de blessure ou de chirurgie,
- Les animaux en cours de traitement (sauf antiparasitaire externe),
- Les animaux non à jeun depuis plus de 8h,
- Les animaux présentant une anomalie détectée à l'examen clinique.

4.2.3. Prélèvement

Pour chaque chien, un tube de sang est rempli par S. Grollier ou C. Trumel (Na₃Citrate Buffered 9NC 4,5 mL ou 1.8 mL, Venoject, Terumo Europe N.V., Leuven, Belgium) par ponction de la veine jugulaire par système de tubes sous vide (aiguille Venoject Multisample

0,8 x 40 mm, Terumo Europe N.V., Leuven, Belgium). Il est homogénéisé par 10 retournements lents. Chaque tube est identifié de la façon suivante : « Race du chien » plus un numéro allant de 1 à x. L'heure du prélèvement est notée sur la fiche d'examen clinique du chien.

Un tube EDTA est également prélevé dans un second temps et identifié de la même façon.

4.2.4. Préparation des spécimens

Les tubes sont conservés dans une glacière à 4°C puis transférés au Laboratoire Central (dans un délai n'excédant pas 7h30 depuis le prélèvement). Les tubes citratés sont centrifugés pendant 15 minutes à température ambiante, à 1300g soit 4000 tours/min (Rotofix 32A, HettickZentrifugen, Tuttlingen, Germany). Après centrifugation, le surnageant est transféré dans un tube Eppendorf reprenant la même identification et le culot cellulaire est jeté.

Sont exclus de l'étude :

- Les plasmas lipémiques,
- Les plasmas présentant une couleur anormale.

4.2.5. Analyses des spécimens

Les tubes Eppendorf sont placés dans l'analyseur (STA-Satellite, Diagnostica Stago, Asnières, France) comme des spécimens de routine pour lesquels on mesure en double TQ, TCA, Fibrinogène et AT, soit les profils d'analyses présélectionnées n°3 et n°4. Si l'heure théorique de fin d'analyse dépasse 20h, une partie des tubes Eppendorf est déposée sur un portoir spécifique et conservée à 4°C au Laboratoire Central jusqu'au lendemain matin. La température du réfrigérateur est suivie par le logiciel Multiplex Maxant (Maxant, Audincourt, France).

Les spécimens prélevés sur EDTA sont analysés par l'analyseur XT-2000i (Sysmex Europe GMBH, Norderstedt, Germany) selon les procédures de contrôles et d'analyses fournies par le fabricant.

4.2.6. Durée de l'étude

Les étapes de prélèvements, préparations et analyses se poursuivent jusqu'à ce que les effectifs souhaités pour chaque race de chien soient atteints et jusqu'à ce que les personnes responsables de cette étude décident de son arrêt.

4.2.7. Résultats des analyses

Une photocopie de toutes les impressions des résultats de ces analyses ainsi que toutes les feuilles d'examen clinique sont conservées par S. Grollier dans le cahier de manipulation qui lui a été remis. Un fichier Excel est rempli par S. Grollier quotidiennement pendant toute la durée de l'étude. Il est composé d'une ligne par animal sélectionné, comprenant dans les colonnes tous les résultats d'analyses du STA-Satellite ainsi que les informations zootechniques codées.

Ce fichier est transmis par e-mail chaque semaine à A. Geffré et J.P. Braun. Les calculs statistiques sont effectués par A Geffré grâce au logiciel Analyse-It.

Les résultats individuels sont communiqués aux propriétaires dans les délais les plus courts, en tout cas au maximum dans les 3 mois suivant le prélèvement, accompagnés d'un commentaire signalant toute anomalie éventuelle des valeurs mesurées.

5. Références

1/ Gerber B, Taboada J, Lothrop CD Jr, Busato A, Hosgood G, Goodman SA, GaschenFP : Determination of normal values using an automated coagulation timer for activated coagulation time and its application in dogs with hemophilia. J Vet Intern Med. 1999;13:433-6.

2/ Stefanon B, Stefanon G, Righi E, StefanonG : Reference values for some fundamentals haemostatic factors in the dog. Pol Arch Weter. 1991;31:29-38.

3/ Tseng LW, Hughes D, Giger U : Evaluation of a point-of-care coagulation analyzer for measurement of prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and activated clotting time in dogs. Am J Vet Res. 2001;62:1455-60.

4/ Solberg HE : International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values, and International Committee for

Standardization in Haematology (ICSH), Standing Committee on Reference Values. Approved Recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1987;25:337-42.

5/ PetitClerc C, Solberg HE : International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1987;25:639-44.


6/ Solberg HE, PetitClerc C : International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1988;26:593-8.

7/ Solberg HE, Stamm D : International Federation of Clinical Chemistry IFCC. IFCC recommendation--theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1991;29:531-5.

8/ Solberg HE : International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1987;25:645-56.

9/ Dybkaer R, Solberg HE : International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). The theory of reference values. Part 6. Presentation of observed values related to reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1982;20:841-5.

ANNEXE 3 : Présentation du projet aux éleveurs

 <p>ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE TOULOUSE</p>	Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France	Présentation du projet
DETERMINATION DES INTERVALLES DE REFERENCE DE TQ, TCA, AT ET FIBRINOGENE CHEZ LE CHIEN PAR L'ANALYSEUR STA-SATELLITE (DIAGNOSTICA STAGO)		

En pratique quotidienne, les vétérinaires cliniciens sont amenés à effectuer des bilans d'hémostase sur les animaux dont ils ont la charge. A l'heure actuelle, il n'existe pas de références concernant des chiens « sains », auxquelles le vétérinaire pourrait comparer les résultats du chien « malade » qu'il examine.

Cette étude a donc pour but de déterminer les valeurs « normales » d'hémostase chez le chien, grâce à un analyseur couramment utilisé dans les laboratoires d'analyses.

Vos questions :

- *Comment se déroule le test en pratique ?*

L'étude est entièrement gratuite pour l'éleveur.

La personne en charge du prélèvement arrive sur le lieu de l'élevage. Certaines données relatives à l'élevage et au chien sont relevées puis un examen clinique est réalisé. Les prélèvements sanguins (2 tubes) sont faits à la veine jugulaire à l'aide d'un dispositif sous vide.

- *Où et quand se déroulent les prélèvements ?*

Nous nous déplaçons dans votre élevage selon nos disponibilités communes et après avoir fixé un rendez-vous. Vos chiens restent ainsi dans leur environnement familial.

- *Quelles sont les conditions pour qu'un animal soit inclus dans l'étude ?*

L'animal doit :

- être un chien adulte, inscrit au LOF, en bonne santé depuis au moins un mois,
- être à jeun depuis au moins 8h avant l'heure prévue du prélèvement,
- ne recevoir aucun traitement autre qu'un antiparasitaire externe.

- *Quelles sont les conditions pour qu'un animal soit exclu de l'étude ?*

L'animal :

- ne satisfait pas les conditions précédentes,
- présente une anomalie lors de l'examen clinique,
- présente une couleur anormale du plasma après centrifugation dans nos locaux.

- *Quels résultats sont rendus à l'éleveur ?*

Un dossier vous sera adressé, comprenant, pour chaque animal inclus :

- le bilan de l'examen clinique,
- les résultats d'hémostase et de l'héмограмme.


- *Y-a-t'il un anonymat ?*

Oui : ni l'identité de vos chiens, ni la vôtre ne seront communiquées.

- *Qui contacter en cas de question ?*

Sophie Grollier (06 12 76 61 50) répondra à toute question éventuelle relative à cette étude.

ANNEXE 4 : Fiche de consentement à l'attention des éleveurs

 <p>ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE TOULOUSE</p>	Unité de Biologie Médicale Animale et Comparée ENVT, 23 Chemin des Capelles, BP 87614 31076 Toulouse Cedex 3, France	Consentement
DETERMINATION DES INTERVALLES DE REFERENCE DE TQ, TCA, AT ET FIBRINOGENE CHEZ LE CHIEN PAR L'ANALYSEUR STA-SATELLITE (DIAGNOSTICA STAGO)		

Je soussigné(e),.....,

demeurant.....

.....donne mon accord pour que mon (mes) chien(s)
(préciser les noms)

.....

.....

participe(nt) à l'étude « DETERMINATION DES INTERVALLES DE REFERENCE DE TQ, TCA, AT ET FIBRINOGENE CHEZ LE CHIEN PAR L'ANALYSEUR STA-SATELLITE (DIAGNOSTICA STAGO)» pour laquelle :

- des informations zootechniques individuelles et collectives seront relevées,
- un examen clinique individuel sera effectué,
- une prise de sang à la veine jugulaire (sans tonte) sera faite pour collecter 2 tubes de sang pour un bilan d'hémostase comprenant la mesure du temps de Quick, du temps de Céphaline Activée, du Fibrinogène et de l'Antithrombine, ainsi qu'un hémogramme.

Les résultats concernant mon élevage me seront communiqués dans un délai de 3 mois. Je déclare avoir été clairement informé par les personnes en charge de cette étude de l'objectif de l'étude et des modalités de déroulement de celle-ci.

A.....Le.....

Signature :

Annexe 5 : Fiche d'examen clinique

Code :

Nom investigateur : CT - SG - CH **Date du prélèvement :**

Adresse élevage :

Race :

Numéro d'inscription au LOF :

Date de naissance :

Sexe :.....1 mâle - 2 femelle- 3 mâle castré - 4 femelle castrée

Stade physiologique :....1 anoestrus - 2 chaleur - 3 gestation - 4 lactation

Animal :.....1 sédentaire - 2 exercice occasionnel - 3 exercice régulier

Etat d'embonpoint :.....1 maigre - 2 normal - 3 surpoids

Jeun > 8h :.....oui - non

Antécédents pathologiques éventuels :

➤ *Observation de signes cliniques dans le dernier mois ?* NON / OUI

.....

➤ *Antécédents de saignements (lors d'une chirurgie, du changement de dents...) ?*NON / OUI

.....

.....

➤ *Liste des principales maladies de l'animal et traitements :*

.....

.....

➤ *Traitements en cours (anti-inflammatoires, etc.) :* NON / OUI

.....

Examen clinique :

<u>T° (°C) =</u>	<u>TRC (s) =</u>
<u>FC (bpm) =</u>	<u>FR (bpm) =</u>

Appareil cardio-respiratoire : RAS - anomalie (à préciser).....

Appareil cutanéomuqueux : RAS - anomalie (à préciser).....

Appareil locomoteur : RAS - anomalie (à préciser).....

Appareil digestif : RAS - anomalie (à préciser).....

Palpation abdominale : RAS - anomalie (à préciser).....

Mamelles : RAS - anomalie (à préciser).....

Commentaires éventuels :

.....

.....

.....

Heure prélèvement	Heure centrifugation	Heure analyse (si différée)	Commentaire (Aspect plasma...)

ANNEXE 6 : Résultats bruts de l'étude de détermination des intervalles de référence

#	TQ n°1 (s)	TQ n°2 (s)	TCA n°1 (s)	TCA n°2 (s)	Fib n°1 (g/L)	Fib n°2 (g/L)	AT n°1 (%)	AT n°2 (%)
1	7,4	7,4	14,5	14,6	2,46	2,54	144	148
2	7,5	7,5	15,6	15,6	5,21	5,10	111	113
3	8,3	8,4	14,3	14,3	1,28	1,14	151	156
4	8,5	8,5	15,7	15,6	1,52	1,54	146	149
5	9,2	9,2	15,7	16,1	1,54	1,49	124	124
6	8,5	8,5	15,1	15,4	1,75	1,71	127	127
7	8,3	8,3	15,9	15,9	2,11	2,18	127	126
8	8,1	8,2	16,2	16,2	2,20	2,24	150	149
9	8,1	8,1	15,4	15,4	2,04	1,99	144	144
10	8,4	8,3	14,7	14,6	1,59	1,6	149	149
11	8,2	8,1	14,3	14,3	3,05	3,17	151	152
12	8,5	8,5	16,3	16,2	1,65	1,65	115	115
13	8,2	8,1	14,1	14,4	2,65	2,77	121	126
14	7,4	7,5	16,5	16,6	2,75	2,78	112	108
15	7,6	7,6	15,7	15,6	3,35	3,31	120	126
16	7,4	7,4	15,3	15,3	4,80	4,83	95	97
17	8,1	8,1	14,4	14,5	1,49	1,41	146	144
18	7,4	7,4	13,9	13,8	2,37	2,45	125	127
19	8,0	8,0	14,0	14,0	2,15	2,13	154	157
20	6,9	6,9	14,5	14,7	2,78	2,86	128	127
21	7,7	7,8	14,6	14,3	1,75	1,70	124	118
22	7,3	7,3	15,4	15,6	2,59	2,57	139	140
23	7,6	7,6	14,4	14,4	4,49	4,34	135	137
24	8,0	7,9	15,4	15,4	1,53	1,45	141	140
25	7,7	7,6	14,8	14,7	1,96	2,01	137	140
26	7,5	7,5	14,0	14,1	1,67	1,77	150	147
27	7,3	7,4	14,2	14,3	2,43	2,44	135	136
28	8,4	8,3	15,1	14,9	1,89	1,88	141	142
29	8,3	8,3	14,1	14,3	1,76	1,98	150	157
30	7,7	7,8	14,0	14,1	2,97	2,97	135	136
31	7,4	7,4	13,7	13,5	3,75	3,87	139	141
32	7,3	7,3	14,6	14,6	2,58	2,58	137	143
33	8,3	8,4	16,2	16,1	1,44	1,45	133	136
34	8,8	8,8	17,3	17,0	1,40	1,45	123	122
35	7,5	7,5	14,0	13,9	2,25	2,21	123	121
36	7,1	7,1	14,2	14,0	2,13	2,10	169	169
37	7,2	7,2	13,9	13,9	1,86	1,81	169	173
38	7,3	7,3	14,7	14,8	2,08	2,07	159	160
39	7,3	7,4	13,3	13,4	1,97	1,89	150	156
40	7,3	7,3	13,4	13,4	2,47	2,46	130	128
41	7,2	7,2	13,9	14	2,07	2,10	151	152

#	TQ n°1 (s)	TQ n°2 (s)	TCA n°1 (s)	TCA n°2 (s)	Fib n°1 (g/L)	Fib n°2 (g/L)	AT n°1 (%)	AT n°2 (%)
42	8,4	8,4	15,6	15,4	1,50	1,47	136	136
43	7,2	7,3	12,8	13,1	1,74	1,77	176	173
44	6,8	6,8	13,5	13,5	2,35	2,20	163	163
45	7,1	7,2	13,3	13,1	2,14	2,15	164	162
46	7,7	7,6	15,7	16,1	1,87	1,87	137	137
47	8,0	8,1	15,8	15,7	1,50	1,52	139	138
48	7,0	7,1	15,2	15,1	3,12	3,03	146	144
49	7,6	7,6	16,4	16,5	3,50	3,57	142	144
50	7,3	7,4	15,3	15,3	2,29	2,26	171	169
51	8,3	8,3	16,3	16,3	1,54	1,55	158	162
52	7,2	7,2	14,4	14,4	1,78	1,84	174	177
53	7,2	7,2	14,8	15,7	2,89	2,85	138	136
54	7,1	7,2	13,4	13,5	2,15	2,16	187	190
55	7,2	7,2	14,3	14,3	2,61	2,69	187	187
56	7,4	7,3	14,2	14,1	1,77	1,86	187	189
57	8,2	8,1	14,8	14,9	1,97	2,04	188	189
58	9,3	9,3	17,0	17,1	1,57	1,62	165	162
59	9,9	9,9	16,1	16,7	1,39	1,36	126	128
60	7,7	7,6	15,0	15,0	1,68	1,68	165	167
61	7,3	7,2	14,8	15,2	4,21	4,24	142	142
62	7,5	7,5	16,2	16,3	2,11	2,05	139	140
63	7,7	7,8	15,1	15,2	2,14	2,16	139	139
64	8,4	8,4	15,4	15,1	2,15	2,25	126	124
65	7,7	7,8	14,4	14,4	1,66	1,47	128	127
66	8,5	8,5	15,0	15,1	2,18	2,21	157	159
67	8,6	8,7	15,8	16,0	1,27	1,19	160	162
68	7,6	7,5	16,9	17,2	2,02	2,01	130	131
69	7,7	7,7	15,4	15,0	1,53	1,51	151	152
70	7,3	7,2	14,1	14,1	2,34	2,29	146	145
71	7,3	7,3	14,4	14,6	2,04	2,11	135	131
72	7,7	7,7	14,9	15,4	1,93	2,08	124	124
73	8,2	8,2	14,1	14,1	2,31	2,51	141	143
74	8,2	8,2	15,4	15,2	2,56	2,63	131	131
75	8,6	8,6	14,6	14,7	2,79	2,79	123	124
76	8,1	8,1	15,3	15,3	2,89	2,84	142	144
77	8,2	8,2	14,3	14,2	1,95	1,88	143	143
78	7,6	7,7	15,2	15,5	3,00	2,94	136	140
79	8,2	8,1	13,8	13,8	1,69	1,76	160	155
80	8,5	8,5	14,6	14,4	1,48	1,39	149	153
81	7,2	7,2	14,8	14,9	1,91	1,97	137	136
82	8,0	8,0	15,7	15,6	2,17	2,17	106	105
83	7,0	7,0	15,0	15,1	3,86	3,83	110	109
84	7,1	7,1	15,7	15,8	2,89	2,88	140	142
85	7,9	8,0	16,1	16,2	1,51	1,53	107	109

#	TQ n°1 (s)	TQ n°2 (s)	TCA n°1 (s)	TCA n°2 (s)	Fib n°1 (g/L)	Fib n°2 (g/L)	AT n°1 (%)	AT n°2 (%)
86	7,3	7,2	13,7	13,8	2,58	2,74	155	158
87	7,0	6,9	13,1	13,0	1,99	1,95	168	171
88	7,7	7,7	15,7	15,7	1,63	1,46	99	100
89	7,2	7,2	15,5	15,5	2,10	2,17	144	146
90	7,4	7,5	14,4	14,3	2,47	2,56	132	132
91	8,2	8,3	14,6	15,1	1,94	1,95	125	124
92	7,3	7,3	14,4	14,6	2,39	2,37	142	148
93	7,0	7,0	15,9	15,9	3,47	3,46	177	174
94	7,8	7,9	15,3	16,1	2,40	2,45	163	166
95	7,5	7,5	15,3	15,4	1,52	1,37	170	166
96	7,4	7,5	13,6	13,6	2,20	2,24	126	126
97	7,6	7,6	14,1	14,1	2,12	2,09	182	180
98	7,3	7,3	16,6	16,5	5,14	5,21	136	133
99	7,8	7,7	14,4	14,1	2,51	2,46	151	153
100	7,2	7,2	13,9	13,9	2,31	2,44	190	193
101	8,3	8,4	15,1	15,1	1,13	1,05	163	164
102	7,3	7,2	14,0	14,2	2,81	2,75	177	179
103	7,0	7,0	13,9	13,8	1,99	1,94	173	174
104	7,8	7,8	15,1	15,3	1,76	1,77	155	156
105	7,5	7,5	15,9	15,4	2,79	2,7	133	133
106	7,8	7,9	16,7	16,9	3,25	3,3	150	150
107	7,3	7,3	15,6	15,6	2,07	2,06	157	155
108	7,7	7,7	15,1	15,1	3,96	3,98	144	140
109	7,1	7,1	15,0	15,0	2,68	2,77	148	146
110	7,5	7,5	16,6	16,1	2,05	2,04	164	169
111	7,4	7,4	17,2	17,1	2,09	2,05	180	178
112	7,9	7,9	15,8	15,9	2,22	2,21	168	168
113	7,6	7,6	14,4	14,2	3,69	3,62	153	157
114	6,9	6,9	16,6	16,0	2,78	2,78	159	161
115	7,0	7,0	17,2	17,2	2,03	2,07	140	142
116	7,1	7,2	17,3	17,4	2,00	2,03	156	159
117	6,7	6,8	17,1	17,5	2,45	2,43	146	145
118	7,2	7,1	15,8	16,0	2,00	2,03	132	134
119	7,7	7,7	14,5	14,3	1,59	1,6	124	127
120	7,8	7,8	15,3	15,4	1,85	1,9	126	126
121	7,3	7,3	14,7	14,6	4,00	4,09	106	110
122	8,0	8,0	14,3	14,3	1,74	1,8	128	131
123	7,3	7,3	15,2	15,0	1,77	1,73	146	146
124	8,2	8,2	16,6	16,7	1,52	1,43	106	107
125	7,0	6,9	14,4	14,4	2,48	2,48	117	115
126	7,4	7,3	15,2	15,1	2,61	2,65	155	155
127	8,9	8,7	13,4	13,9	1,38	1,23	137	136
128	8,7	8,8	14,8	14,3	1,35	1,23	125	123
129	8,0	8,0	14,5	14,5	1,89	1,82	102	104
130	8,1	8,2	14,2	14,1	1,70	1,76	140	139
131	8,1	8,1	14,7	14,6	1,57	1,63	142	141

#	TQ n°1 (s)	TQ n°2 (s)	TCA n°1 (s)	TCA n°2 (s)	Fib n°1 (g/L)	Fib n°2 (g/L)	AT n°1 (%)	AT n°2 (%)
132	7,4	7,3	14,9	14,8	2,48	2,51	134	133
133	8,3	8,3	14,4	14,4	1,32	1,15	110	117
134	8,2	8,2	13,7	13,9	1,99	1,97	131	133
135	8,0	7,9	12,8	12,7	1,80	1,83	125	126
136	7,8	7,8	14,1	14,1	1,74	1,71	115	112
137	7,7	7,7	15,2	15,3	3,35	3,43	154	157
138	8,4	8,5	14,6	14,6	1,96	2,01	142	144
139	8,0	8,0	14,3	14,3	2,13	2,06	164	165

Toulouse, 2012

NOM : Hanot

PRENOM : Camille

TITRE : Détermination d'intervalles de référence des bilans d'hémostase de routine chez le chien sain déterminés avec un analyseur STA-Satellite (Diagnostica Stago) : étude expérimentale.

RESUME : Dans cette étude, les intervalles de référence du temps de Quick (TQ), du temps de céphaline plus activateur (TCA), du fibrinogène (FIB) et de l'antithrombine (AT) ont été déterminés conformément aux recommandations internationales. Les coefficients de variation de l'imprécision de l'analyseur STA Satellite® étaient respectivement de 3,9%, 1,3%, 6,9% et 5,1% pour le TQ, le TCA, le FIB et l'AT. A 4°C, les spécimens citratés étaient stables jusqu'à 8 heures pour le sang total et pendant 36 heures pour le plasma, excepté pour la mesure du TCA, qui était légèrement augmentée (< 1 seconde). Les intervalles de référence non-paramétriques, déterminés grâce au plasma citraté de 139 chiens de pure race, en bonne santé et à jeun, étaient de 6,9-8,8 secondes, 13,1-17,2 secondes, 1,24-4,30 g/L et 104-188% respectivement.

MOTS-CLES : Hémostase, chien, intervalle de référence, analyseur STA-Satellite.

TITLE : Determination of canine reference intervals for coagulation markers using the STA-Satellite® (Diagnostica Stago) analyzer : experimental study.

ABSTRACT : The aim of the current study was to determine canine reference intervals for prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen(FIB) and antithrombin (AT) according to international recommendations. The STA Satellite® coefficients of variation of within-laboratory imprecision were 3.9%, 1.3%, 6.9%, and 5.1% for PT, APTT, FIB and AT, respectively. At 4°C, citrated specimens were stable up to 8 hours for whole blood and 36 hours for plasma, except for APTT, which increased slightly (<1 seconde). Nonparametric reference intervals determined in citrated plasma from 139 healthy fasting purebred dogs were 6.9–8.8 secondes, 13.1–17.2 secondes, 1.24–4.30 g/l, and 104–188% for PT, APTT, FIB and AT, respectively.

KEY WORDS : Hemostasis, dog, reference interval, Sta-Satellite analyzer.