

Conseils et astuces pré analytiques



Volume 1 : Les analyses de sang chez
les petits animaux



SARSTEDT

Préface

Le diagnostic clinique de laboratoire fait partie intégrante de la pratique vétérinaire. Après l'anamnèse et l'examen clinique, les analyses nécessaires sont définies dans le cadre du plan de dépistage afin de confirmer ou d'exclure les diagnostics différentiels. Ainsi, la contribution de l'hématologie et de la chimie clinique au diagnostic des

maladies est souvent décisive. La biologie moléculaire en particulier, qui a fait son entrée dans les laboratoires, permet désormais de mieux déterminer l'étiologie de certaines maladies. Les résultats de laboratoire continuent d'être interprétés dans le cadre de la surveillance, du suivi thérapeutique et du pronostic des maladies.



Prof. Dr. méd. vet. Andreas Moritz

À ce propos, la citation de la brochure d'information Bonnes pratiques et astuces en préanalytique, rédigée par les sociétés LABOKLIN et SARSTEDT « ... Malgré la très grande précision des analyseurs actuels, le

résultat de l'analyse ne peut être correct que dans la mesure où la qualité de l'échantillon le permet. », illustre l'importance cruciale de ce thème. La phase préanalytique désigne la partie du processus de diagnostic biologique qui est réalisée avant l'analyse proprement dite des échantillons. Cela comprend, après l'anamnèse et la préparation du patient animal, le prélèvement, la conservation et le transport appropriés des échantillons afin de s'assurer que les résultats sont fiables et significatifs. S'il est possible de vérifier les valeurs erronées dans le processus d'analyse en laboratoire par des mesures répétées, les erreurs préanalytiques sont irrécupérables dans la plupart des cas. Il devient donc essentiel d'effectuer toutes les étapes avec soin afin de minimiser les erreurs potentielles.

Dans les huit chapitres ci-après seront présentées les notions de base sur ce thème de manière compréhensible et illustrées et informative : Qu'est-ce que la phase préanalytique, - Préparation du patient animal, - Aperçu du matériel et des tubes d'échantillons, - Erreurs fréquentes lors de la phase préanalytique, - Prélèvement d'échantillons, - Sécurité en matière de prélèvement d'échantillons, - Préparation des échantillons avant analyse, - Étiquetage, stockage et transport. Des textes facilement mémorisables dans des encadrés grisés favorisent la compréhension, l'apprentissage et la mémorisation. Une grande place est consacrée, à juste titre, à la préparation et à l'analyse des frottis sanguins. Les images cellulaires des frottis sanguins de chiens, de chats et de petits mammifères sont importantes et dépassent légèrement le stade du préanalytique. En cliquant sur des QR codes dans ce document, vous pouvez accéder en ligne à des tutoriels sous forme de vidéos YouTube (p. ex. préparation, coloration d'un frottis sanguin).

Cette brochure est destinée non seulement aux vétérinaires, aux assistant(e)s vétérinaires et aux personnels médico-techniques en tant que document de référence pour la pratique, mais est également vivement recommandée aux étudiant(e)s en médecine vétérinaire.

Le Prof. Dr. méd. vet. Andreas Moritz a fait ses études de médecine vétérinaire à l'université Justus-Liebig (JLU) de Giessen. Après son doctorat et son habilitation dans le domaine de la médecine interne et du diagnostic clinique de laboratoire, il a été nommé professeur d'université au département de médecine vétérinaire de la JLU. Après avoir travaillé à St. Paul, Minnesota, États-Unis, et à Gand, en Belgique, il est revenu à la JLU et a été nommé professeur de pathophysiologie clinique et de diagnostic clinique de laboratoire en 2006. Depuis 2017, en plus de la direction du laboratoire central du département, il dirige la clinique pour petits animaux, médecine interne. Il est vétérinaire spécialisé en médecine interne et en diagnostic clinique de laboratoire ainsi qu'EBVS® European Veterinary Specialist in Small Animal Internal Medicine (Dipl. ECVIM-CA) et membre associé de l'European College of Veterinary Clinical Pathology (ECVCP). Le professeur Moritz s'engage non seulement dans la formation des étudiant(e)s en médecine vétérinaire, mais aussi dans la qualification professionnelle nationale et internationale des vétérinaires dans le domaine de la médecine interne des petits animaux et du diagnostic clinique de laboratoire. Il est actuellement président de la Société allemande de médecine des petits animaux (DGK-DVG).



ANIMAL HEALTH CARE

*Première édition allemande :
Conseils et astuces pré analytiques
Volume 1 : Les analyses de sang chez les petits animaux
Janvier 2024*

*Ce livret a été réalisé en coopération avec le laboratoire vétérinaire LABOKLIN
et l'entreprise de technologie médicale SARSTEDT.*

Autrices : Dr. Annemarie Baur-Kaufhold, Dr. Maria Brockmann, Ida Dolle

Lien vers la version PDF : www.sarstedt.com/prélèvement-sanguin-vet

© 2024 LABOKLIN & SARSTEDT - tous droits réservés



animalhealthcare.
sarstedt.com



laboklin.de

Contenu

Préface	2
1. Que signifie « préanalytique » ?	6
2. Préparation du patient animal	8
2.1. Facteurs d'influence	10
2.1.1. Âge, race et conditions de vie	10
2.1.2. Choix des examens	11
2.1.3. Médication et biorythme	12
2.1.4. Ordre de prélèvement	13
3. Informations concernant les échantillons et les tubes	14
3.1. Sérum vs plasma – Quelle est la différence ?	16
3.2. Aperçu des différents échantillons	17
3.2.1. Code couleur des tubes	18
3.2.2. Tubes d'héparine de lithium	19
3.2.3. Tubes EDTA	20
3.2.4. Tubes sérum	22
3.2.5. Tubes citrate	23
3.2.6. Tubes fluorure de sodium	24
3.3. Quel type d'échantillon pour quelle analyse ?	25
4. Erreurs fréquentes en préanalytique	26
4.1. Facteurs de perturbation	27
4.1.1. Hémolyse	28
4.1.2. Hyperlipidémie (lipémie)	30
4.1.3. Ictère	31
5. Prélèvement d'échantillons	32
6. Sécurité en matière de prélèvement d'échantillons	42
7. Préparation de l'analyse de laboratoire	46
7.1. Centrifugation	48
7.2. Comment préparer un frottis sanguin ?	51
8. Etiquetage, stockage et transport	60
Bibliographie	66



1. Que signifie « préanalytique » ?





« Bonjour la souris, tu es une experte du laboratoire, n'est-ce pas ? »

« Oui, je suis heureuse de te conseiller et de te venir en aide ! »

« Je trouve ça génial ! Au fait, qu'entend-on par phase préanalytique et pourquoi est-ce important de le savoir ? »

« La phase préanalytique englobe tous les processus indispensables avant l'analyse en laboratoire. Certaines sont susceptibles d'avoir une influence sur le résultat du dosage. Après tout, malgré la très grande précision des analyseurs actuels le résultat l'analyse ne peut être correct que dans la mesure où la qualité de l'échantillon le permet. »



La phase préanalytique comprend toutes les étapes qu'il est nécessaire d'effectuer avant l'analyse effective de l'échantillon. Citons parmi ces étapes, l'anamnèse ainsi que l'examen clinique qui permettent de poser l'indication pour l'analyse en question. La préparation du patient, le choix des systèmes de recueil adéquats, le prélèvement des échantillons, la préparation des échantillons, leur transport, leur stockage, leur traitement et leur acheminement jusqu'au début de l'analyse en font également partie.

Comme le montre ces exemples, la majeure partie de la phase préanalytique se déroule avant que l'échantillon n'arrive au laboratoire. Ainsi, le ou la vétérinaire traitant peut dans de nombreux cas contribuer de manière décisive à l'obtention d'échantillons de qualité et donc à un résultat fiable et exploitable. En raison du grand nombre de possibilités de sources d'erreurs potentielles, il est judicieux de se familiariser avec différents aspects du préanalytique avant une analyse.

2. Préparation du patient animal



Rendre la visite dans votre cabinet agréable et apaisée pour les patients animaux et leurs propriétaires n'est pas seulement bon pour votre image, mais a également une influence déterminante sur la qualité des échantillons.

Veillez informer préalablement le ou la propriétaire de l'animal de l'influence de l'activité physique ou du stress sur les résultats d'une analyse de sang. En effet, les enzymes associées à la musculature, telles que la CK, la LDH et l'AST, peuvent voir leur taux augmenté dans le sérum après un effort physique. On peut également s'attendre à une augmentation des taux sériques de glucose et de lactate. Les autres aspects qui doivent être clarifiés au préalable sont examinés ci-après.



Remarque

« En principe, il est préférable de demander au ou à la propriétaire de présenter son animal carnivore à jeun (environ 12 heures d'abstinence alimentaire) pour un prélèvement de sang, dans la mesure où une lipémie postprandiale peut influencer de nombreux paramètres de mesure et, dans le pire des cas, rendre l'échantillon inexploitable ».*

** (Moritz et al., 2014)*



2.1. Facteurs d'influence

Les paragraphes ci-après donnent un aperçu des facteurs d'influence susceptibles d'être sources d'erreur potentielles dans le diagnostic. En conséquence, il est nécessaire de connaître les antécédents, le traitement, le diagnostic préliminaire et les procédures de test avant chaque examen.

2.1.1. Âge, race et conditions de vie

- Les jeunes animaux : ils peuvent présenter des valeurs plus élevées ou plus basses par rapport aux animaux adultes pour certains paramètres (p. ex. AP, phosphate ...) (Humann-Ziehank et Ganter, 2012).
- Particularités spécifiques de la race : Pour certains paramètres, on peut s'attendre à des variations spécifiques liées à la race (par exemple, lévriers : concentration en thyroxine, leucocytes et thrombocytes plus faibles, hématokrite plus élevé ; Cavalier King Charles : macrothrombocytopenie possible (Zaldívar-López *et al.*, 2011)).



2.1.2. Choix des examens

Avant de procéder à un prélèvement de sang, il convient de réfléchir à l'analyse souhaitée et aux conditions requises :

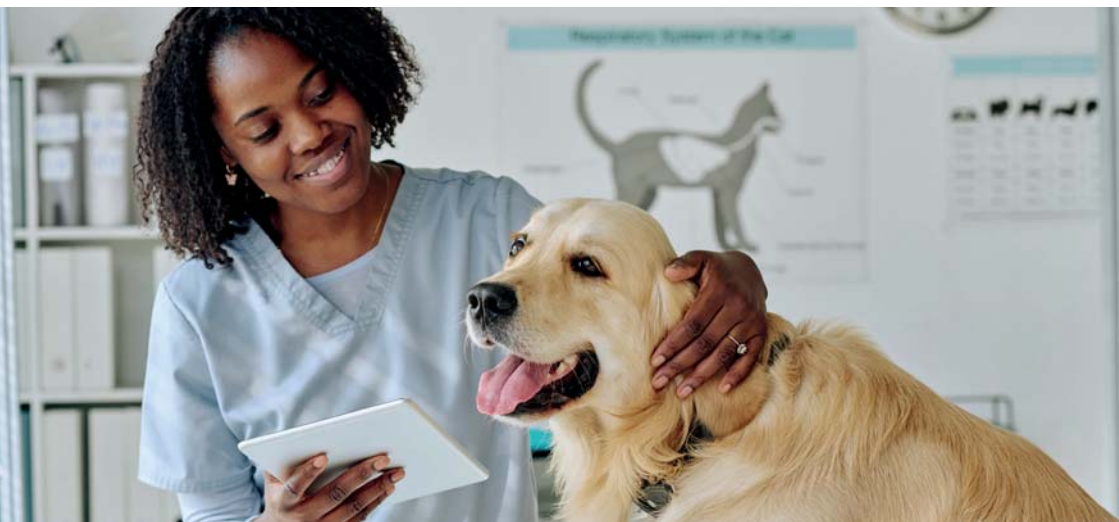
- L'examen demandé est-il disponible pour cette espèce ?
- Le patient animal doit-il être dans une condition physique particulière pour l'analyse à venir (par exemple à jeun) ou rester un certain temps au cabinet ?
- S'agit-il d'un suivi thérapeutique ou d'une vérification de l'ajustement posologique du traitement médicamenteux ?
- Des tests de suppression ou de stimulation sont-ils nécessaires ?
- Quel est le matériel nécessaire ? L'analyse souhaitée est-elle possible et pertinente avec le matériel disponible ? Exemple : Les tests de coagulation ne sont possibles que sur un plasma citraté !
- Quel est le volume d'échantillon nécessaire pour l'analyse ?
- Dans quel délai, l'échantillon peut être transporté au laboratoire sans fausser le résultat ? Il est conseillé de vérifier au préalable la stabilité des paramètres et de clarifier les conditions préanalytiques nécessaires.

Toujours éviter le stress, l'excitation et les efforts physiques importants avant le prélèvement de sang (Moritz *et al.*, 2014). C'est notamment le cas pour les animaux sauvages, ainsi que pour les animaux dont la manipulation est peu courante (Braun *et al.*, 2015).

2.1.3. Médication et biorythme











- Le patient animal reçoit-il un traitement particulier susceptible d'influencer les résultats l'analyse et donc de conduire potentiellement à une interprétation erronée ? (Des exemples de thérapies combinées problématiques sont le traitement au phénobarbital chez un épileptique qui doit être testé simultanément pour une hypothyroïdie (Gaskill *et al.*, 2000), un traitement aux glucocorticoïdes chez un chien qui doit subir un test de stimulation à l'ACTH ou des prétraitements antibiotiques avant l'examen microbiologique).
- Y a-t-il un rythme biologique à respecter pour le paramètre demandé ?

Comme le montre clairement ces exemples, il n'est pas toujours possible de contrôler tous les facteurs d'influence préanalytiques. Il convient néanmoins de documenter le plus grand nombre possible de facteurs (Braun *et al.*, 2015) afin de faciliter ultérieurement l'interprétation des résultats.



2.1.4. Ordre de prélèvement

Pour l'ordre prélèvement, il est conseillé d'utiliser un schéma fixe et éprouvé, par exemple le schéma de Gurr. La signification des différents codes couleur est expliquée au chapitre 3.2.1..

Code CE, selon le système BS 4851	Code couleur ISO selon ISO 6710	
		Hémoculture
		Sérum/sérum gel – sang
		Citrate – sang
		Héparine/héparine gel – sang
		Sang EDTA
		Fluorure/fluorure de citrate – sang

Gurr *et al.*, (2011)

« L'ordre de prélèvement peut être celui recommandé par le CLSI. Dans ce cas, prélever le tube citrate, puis le tube sérum, puis le tube héparine et enfin le tube EDTA et le tube fluorure. Un tableau de synthèse de l'ordre de prélèvement est disponible sur demande »



« Zut ! Nous venons de collecter l'échantillon de sang dans le tube EDTA au lieu du tube sérum. Je vais le transvaser tout de suite ! »

« Surtout pas ! En effet, le mélange du sang avec l'EDTA a déjà eu lieu pendant le prélèvement, et les résultats de l'analyse sont évidemment faussés ! Ne jamais transvaser les échantillons d'un tube dans un autre ! »

*(Moritz *et al.*, 2014)*



3. Informations concernant les échantillons et les tubes



Différentes matrices sont disponibles pour les analyses de sang. En voici un aperçu.

Il s'agit du sang total, du sérum et du plasma. Ils diffèrent par leur composition. Le traitement ultérieur de l'échantillon dépend également de sa nature.

Le sang total est issu du sang total auquel on a ajouté un anticoagulant (par exemple de l'héparine ou de l'EDTA). Il empêche la coagulation du sang et permet de séparer les composants liquides sanguins des composants solides.

Le plasma est issu du sang total mélangé à un anticoagulant (par exemple, de l'héparine ou de l'EDTA) et est immédiatement séparé en cellules sanguines (composants solides) et en plasma (composants liquides) par centrifugation. Contrairement au sérum, le plasma contient tous les facteurs de coagulation du sang car ils n'ont pas été utilisés pour la coagulation.

Le sérum est également issu du sang total, sans ajout d'anticoagulant, mais généralement avec un activateur de coagulation. L'échantillon va inévitablement coaguler et ne peut être centrifugé que 30 minutes après le prélèvement (il est conseillé de le conserver à la verticale durant ce laps de temps). Le sérum ne contient pas de facteurs de coagulation, car ces derniers sont utilisés pendant le processus de coagulation (Moritz *et al.*, 2014).



Remarque

« Si le temps de repos du tube de sérum est trop court, le sérum peut prendre la consistance d'un gel, ce qui rend toute mesure ultérieure difficile, voire impossible ! »

(Moritz et al., 2014)



SARSTEDT

3.1. Sérum vs plasma – Quelle est la différence ?

Sérum	Plasma
... surnageant acellulaire d'un échantillon complètement coagulé	... surnageant acellulaire d'un échantillon contenant des anticoagulants
... ne contient pas de fibrine	... contient de la fibrine
... rendement plus faible	... rendement plus élevé
... l'échantillon doit d'abord coaguler avant d'être centrifugé.	... l'échantillon peut être centrifugé juste après le prélèvement..

Le caillot prend la forme dans laquelle les cellules sanguines se trouvent dans le tube.

Cela signifie que si la S-Monovette® est à plat après le prélèvement du sang, les cellules sanguines sédimentent le long du tube à l'horizontale et prennent une forme allongée.

Il est possible de comprimer la structure qui en résulte au cours de la centrifugation. Après centrifugation, il se reforme en accordéon (« phénomène de boudinage »).



« Le sérum d'un tel échantillon ne peut pas être pipeté automatiquement. C'est pourquoi il est important de conserver les échantillons de sérum à la verticale après le prélèvement de sang. »





échantillon coagulé à la verticale après centrifugation



échantillon coagulé à l'horizontale après centrifugation

3.2. Aperçu des différents échantillons

Les tubes d'échantillons les plus importants pour la pratique quotidienne avec leurs principales applications sont listés dans le tableau ci-après :

Échantillons	Applications
Citrate	Coagulation
Fluorure de sodium	Glucose/lactate
Sérum gel	Chimie clinique/sérologie...
Héparine de lithium	Chimie clinique
EDTA	Cytologie sanguine

3.2.1. Codes couleur des tubes

Ne soyez pas déconcerté(e) par les différentes couleurs des tubes !

Les bouchons des différents tubes d'échantillons permettent de distinguer les différentes préparations (= anticoagulants/accélérateurs de coagulation) que contiennent les tubes. À noter qu'il existe deux codes couleur différents.

- « Code couleur UE » (selon la norme britannique BS 4851)
- « Code couleur ISO » (selon la norme internationale ISO 6710)

La meilleure solution est de convenir de l'un des deux codes couleur dans le cabinet et avec le laboratoire. Cependant, la préparation exacte est toujours inscrite sur le tube en plus du code couleur.



3.2.2. Tubes d'héparine de lithium

Ces tubes sont polyvalents, car ils permettent d'analyser de nombreux paramètres clinico-chimiques avec du plasma hépariné (idéalement, ils doivent être envoyés déjà centrifugés pour éviter l'hémolyse). Le rendement du plasma est également légèrement supérieur à celui du sérum, qui laisse toujours une plus grande proportion de liquide dans le caillot de sang (Moritz *et al.*, 2014). Les tubes héparine de lithium sont particulièrement appréciés par les personnes qui s'occupent de petits mammifères ou d'animaux exotiques, car il permet souvent de ne prélever qu'un petit volume d'échantillon sur ces animaux.

Attention : Les prélèvements sur héparine de lithium ne conviennent pas aux tests PCR en raison de leur effet inhibiteur (Schrader *et al.*, 2012).



Remarque

« Important : toujours utiliser, dans la mesure du possible, le même support (sérum ou plasma) pour l'analyse clinico-chimique. Ce principe s'applique en particulier aux analyses répétées, car pour certains analytes, comme le potassium, il peut y avoir des concentrations différentes dans le sérum et le plasma. »

(Humann-Ziehanke und Ganter, 2012; Braun *et al.*, 2015)



3.2.3. Tubes EDTA

L'EDTA (acide éthylènediaminotétracétique) est un agent chélateur. Il sert d'anticoagulant grâce à la fixation des ions métalliques, notamment les ions calcium, qui sont nécessaires à la coagulation du sang. Il est possible de distinguer différentes formes d'EDTA, par exemple l'EDTA dipotassique et l'EDTA tripotassique. (Moritz *et al.*, 2014). Le sang dans les tubes EDTA est essentiellement utilisé pour les analyses d'hématologie.

Il est important d'homogénéiser doucement l'échantillon immédiatement après le prélèvement de sang pour éviter la formation de caillots, ce qui porterait préjudice à l'analyse de l'échantillon (Vap *et al.*, 2012) ! Les tubes EDTA ne doivent jamais être remplis en premier, pour ne pas risquer de contaminer l'aiguille par l'EDTA. Cela peut alors entraîner des mesures erronées pour de nombreux paramètres (notamment pour le bilan biochimique) (Sharratt *et al.*, 2009).

Les échantillons EDTA sont nécessaires non seulement pour l'hémogramme, mais aussi pour déterminer le groupe sanguin. Ils peuvent également être utilisés pour des tests génétiques et la détection d'agents pathogènes par PCR (réaction en chaîne par polymérase), à condition que l'agent pathogène recherché se trouve dans le sang. Cependant, pour certains tests, tels que l'ACTH ou le pro-BNP, il est nécessaire d'avoir du plasma EDTA centrifugé et décanté (pour plus d'informations sur la centrifugation et l'étiquetage des échantillons, voir page 48).



Remarque

« Attention ! L'utilisation de l'EDTA est contre-indiquée chez les reptiles et certaines espèces d'oiseaux, car elle peut provoquer une hémolyse, ce qui rend impossible tout dosage ultérieure. »

(Nardini et al., 2013)



SARSTEDT

3.2.4. Tubes sérum

Les tubes sérum contiennent généralement des activateurs de coagulation qui permettent une coagulation rapide. Le sérum peut être utilisé pour l'analyse de la majorité des paramètres clinico-chimiques et pour de nombreux tests sérologiques. Comme son nom l'indique, l'électrophorèse sérique doit également être réalisée à partir du sérum.



Tubes sérum gel

Il est possible de les utiliser de la même manière que les tubes sérum. Leur avantage est que le gel se positionne à l'interface de la phase cellulaire et de la phase liquide. La présence de gel permet un transport en toute sécurité de l'échantillon centrifugé.



*« J'ai ici un tube avec l'abréviation CAT.
Est-ce seulement pour les chats ? »*

*« Non, les tubes de sérum portent également l'abréviation CAT,
qui signifie 'Clot Activator'. »*

(Moritz et al., 2014)



Tubes neutres :

Les tubes sérum neutre sont marqués « Neutre ou Neutre Z ». Ils ne contiennent aucune préparation et sont utilisés soit comme tubes sérum, soit pour transvaser des échantillons de plasma (par exemple, plasma citrate).



3.2.5. Tubes citrate

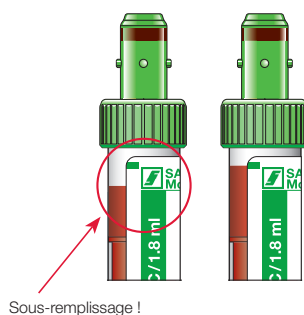
En général, le rapport de mélange pour le sang citraté est de 9:1. Le sang et/ou le plasma citratés sont nécessaires pour les analyses de coagulation. Pour une manipulation correcte, il convient de tenir compte de certains points importants :

1. Ne jamais remplir les tubes de citrate en premier (Moritz *et al.*, 2014), car la coagulation est déjà initiée par le processus de perforation de la veine (possibilité de prélever un tube neutre avant le tube citrate).
2. Même s'il est impératif de respecter la date de péremption pour tous les tubes (Braun *et al.*, 2015), elle est particulièrement importante pour ces tubes !
3. Lors du prélèvement d'échantillons, il est également important de veiller à ce que les tubes soient remplis au volume nominal. Tout remplissage excessif ou insuffisant entraîne des résultats d'analyse de coagulation faussés. Dans certains cas, la coagulation de l'échantillon en laboratoire n'est plus possible.
4. Il est recommandé de centrifuger et de pipeter rapidement l'échantillon et d'utiliser du plasma de citrate réfrigéré pour la plupart des paramètres de coagulation (voir 3.2.4. Tubes neutres). Le sang total citraté est néanmoins nécessaire pour la thromboélastographie !



La quantité de remplissage optimale varie selon les tubes. Pour trouver le repère des niveaux de remplissage à maintenir dans les deux tubes de droite, suivez la flèche.

Éviter absolument tout remplissage excessif ou insuffisant ! Les caillots n'entraînent pas seulement des résultats de mesure erronés, ils peuvent également obstruer les capillaires des appareils (Moritz *et al.*, 2014).



3.2.6. Tube fluorure de sodium

Uniquement pour le dosage du lactate et du glucose. Ces tubes sont particulièrement importants lorsque le glucose ne peut pas être mesuré directement au cabinet et est envoyé dans un laboratoire externe. Le fluorure de sodium bloque la dégradation du glucose dans l'échantillon, ce qui permet d'utiliser des tubes de fluorure de sodium pour mesurer la concentration en glucose (Braun *et al.*, 2015).



3.3. Quel type d'échantillon pour quelle analyse ?

Tous les échantillons ne peuvent pas être utilisés pour tous les examens. Le tableau suivant donne un aperçu des analyses qui peuvent être réalisées efficacement avec quel tube.

Utilisations possibles de différents types d'échantillons

Anticoagulant	Matériau	Hémo-gramme	Frottis sanguin	Paramètres clinico-chimiques	Sérologie	Coagulation
EDTA	Sang total	Oui	Oui	Non	Non	Non
EDTA	Plasma	Non	Non	Limité	Limité	Non
Héparine de lithium	Sang total	Oui	Limité	Non	Non	Non
Héparine de lithium	Plasma	Non	Non	Oui	Oui	Non
Citrate	Sang total	Non	Oui	Non	Non	Limité
Citrate	Plasma	Non	Non	Non	Non	Oui
NaF (fluorure de sodium)	Plasma	Non	Non	Glucose, lactate	Non	Non
Tubes de sérum sans anti-coagulant	Sérum	Non	Non	Oui	Oui	Non

4. Erreurs fréquentes lors de la phase préanalytique



4.1. Facteurs de perturbation

Les facteurs de perturbation les plus courants lors de la phase préanalytique sont l'hémolyse, les tubes sous-remplis et les échantillons coagulés. Le tableau ci-dessous donne un aperçu des causes ainsi que des informations sur les conséquences.

Facteurs perturbateurs courants et leurs causes possibles

Facteur de perturbation	Cause	Paramètre concerné
Caillot	Surremplissage des tubes EDTA, héparine de lithium ou citrate	Cytologie sanguine qui comprend la numération plaquettaire, les paramètres de coagulation
Hémolyse	Échantillon non centrifugé, mauvaise centrifugation, erreurs de pipetage, longue durée de stockage, températures très élevées, prélèvement difficile (matériel de prélèvement non adapté)	Divers paramètres clinico-chimiques, par exemple une concentration en potassium faussement élevée
Lipémie	Patient animal qui n'est pas à jeun, médicaments, endocrinopathies et plusieurs autres modifications pathologiques	Différents paramètres clinico-chimiques ainsi que certains paramètres de l'hémogramme ; il peut arriver, par exemple, que la lipémie perturbe le dosage de l'hémoglobine.
Médicaments	Thérapie (par exemple perfusions, glucocorticoïdes, antibiotiques, sédatifs)	Elle varie (faussement élevée ou faussement faible) en fonction du médicament et des paramètres ; par exemple, une variation typique de l'administration de glucocorticoïdes est l'augmentation des enzymes hépatiques (en particulier de la phosphatase alcaline) chez le chien.
Surremplissage ou sous-remplissage	Niveau de remplissage nominal non atteint	Paramètres de coagulation



Remarque

« La contamination par EDTA, par exemple en cas de non respect de l'ordre de prélèvement de l'échantillon, peut entraîner des modifications typiques telles que des taux de potassium très élevés et des taux de calcium faibles »



SARSTEDT

4.1.1. Hémolyse

Une hémolyse peut avoir diverses causes. L'hémolyse a lieu souvent *in vitro*, par exemple en raison d'une congestion excessive, de forces physiques de cisaillement (aiguille trop fine, aiguille tordue), d'une ponction veineuse traumatique (« piqûre »), d'un brassage ou d'une agitation trop violente de l'échantillon de sang, de températures trop élevées ou trop basses, d'une vitesse de rotation trop élevée lors de la centrifugation, d'une contamination par de l'eau ou des désinfectants, ainsi que lorsque l'échantillon est trop vieux. Bien que l'hémolyse *in vitro* soit plus courante, l'hémolyse *in vivo* doit toujours être envisagée.



Conséquences d'une hémolyse

Libération du contenu cellulaire – différences de concentration

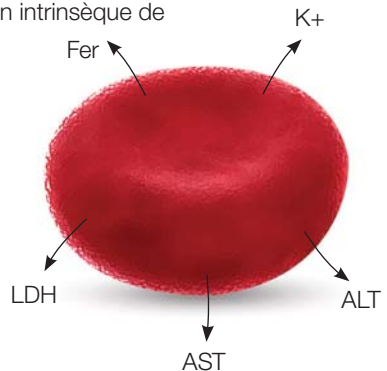
Les substances présentes en concentrations plus élevées dans les érythrocytes (concentration intracellulaire) sont libérées dans le sérum/plasma (concentration extracellulaire) du fait de la destruction de la membrane cellulaire des érythrocytes lors de l'hémolyse. Il en résulte des valeurs faussement élevées.

Libération du contenu cellulaire – perturbation visuelle

Lors de l'hémolyse, l'hémoglobine, le pigment rouge du sang, est également libérée dans le sérum/plasma. Cela peut entraîner des signaux de mesure erronés dans les analyses photométriques en raison de l'extinction intrinsèque de l'hémoglobine.

Faux signal de mesure = faux résultat

(Humann-Ziehanck und Ganter, 2012)



Remarque

« L'hémolyse est la libération de substances intraérythrocytaires après une lésion de la membrane cellulaire. La coloration rouge du sérum/plasma se révèle être problématique lors des mesures, notamment lors des tests photométriques. »



4.1.2. Hyperlipidémie (lipémie)

La lipémie peut influencer de nombreux paramètres (Braun et al., 2015). Certains paramètres risquent même de ne pas pouvoir être mesurés, selon le degré de lipémie. En conséquence, les carnivores doivent toujours être présentés à jeun (environ 12 heures sans nourriture) pour un prélèvement de sang. Les causes de la lipémie peuvent être très disparates : même si dans le cas le plus simple, il s'agit simplement d'une hyperlipidémie postprandiale, des influences alimentaires et médicamenteuses ainsi que des causes endocrinologiques, inflammatoires, néoplasiques ou génétiques peuvent également jouer un rôle important (Xenoulis et Steiner, 2015). Ainsi, il est indispensable d'étudier plus en détail l'hyperlipidémie récurrente.

Échantillon lipémique



« Des résultats de laboratoire corrects sont essentiels pour les décisions de traitement ultérieures mais ils nécessitent une qualité d'échantillon optimale résultant d'une phase préanalytique correcte. »



4.1.3. Ictère

Les échantillons ictériques peuvent également présenter diverses interférences lors de la mesure (Martínez-Subiela *et al.*, 2002 ; Berlanda *et al.*, 2020). Il est donc important de vérifier les échantillons visuellement et par des mesures spécifiques pour détecter la présence de décoloration jaune.

Attention : Il est important de savoir que le plasma ou le sérum des chevaux présente physiologiquement une coloration jaune marquée !



Échantillon ictérique



« C'est bien de pouvoir me faire directement une idée de la qualité de mon échantillon grâce aux indices d'hémolyse, de lipémie et d'ictère ! Cela me permet de mieux évaluer comment interpréter les résultats des paramètres respectifs ! »



5. Prélèvement d'échantillons



Différentes veines conviennent au prélèvement de sang veineux Le graphique suivant donne un aperçu des veines couramment utilisées pour chaque espèce animale.



Remarque

« Assure-toi toujours de te protéger lors du prélèvement, et porte des gants ! »



Sites de ponction possibles pour le prélèvement de sang

Espèces	Veine jugulaire	Veine saphène latérale	Veine saphène médiale	Veine céphalique antébrachiale	Veine auriculaire	Veine faciale (plexus de la joue)
Chien	x	x		x		
Chat	x		x	x		
Lapin/lièvre		x		x	(x)	
Furet		x		x		
Cochon d'Inde		x		x		
Rat, souris, gerbille		(x)				x
Cheval	x		(x)	(x)		

(Moritz et al., 2014)

Chez les petits animaux, le sang est prélevé de préférence au niveau de la *veine céphalique antébrachiale* avec une aiguille 20-G (Moritz et al., 2014).

La solution appropriée pour chaque animal - ensemble pour un meilleur bien-être animal.

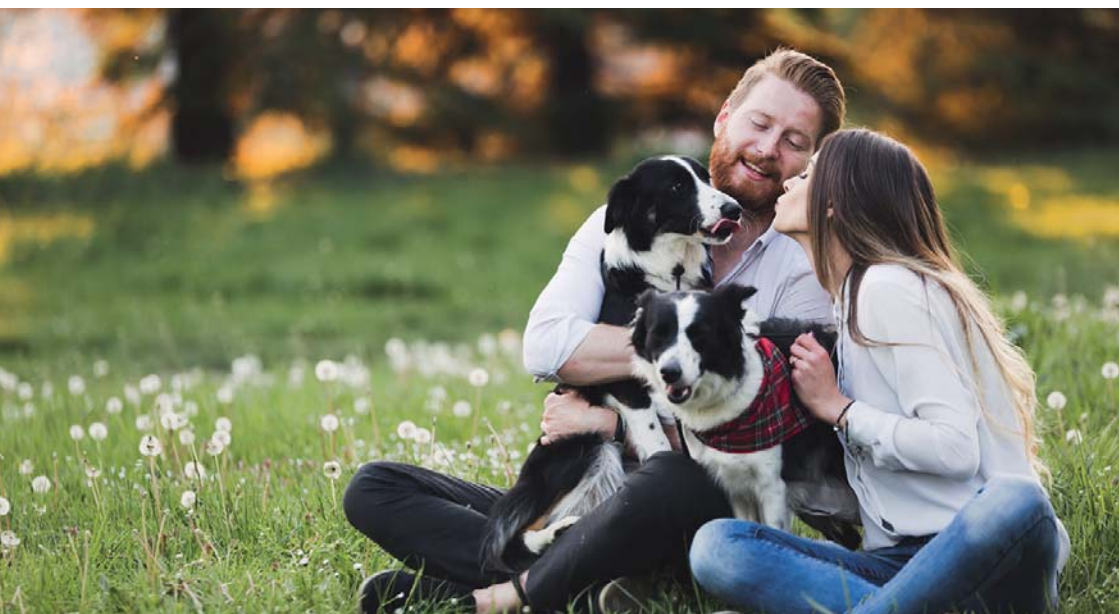
Dans votre cabinet/clinique, vous prenez en charge beaucoup d'espèces animales différentes, chacune avec ses propres besoins. SARSTEDT vous propose des solutions qui conviennent au préanalytique en médecine vétérinaire.

La S-Monovette® - un prélèvement sanguin sûr, doux et hygiénique sur de taille moyenne ou de gros animaux.

La Multivette® – prélever doucement et facilement le sang de petits animaux uniquement par la pression veineuse

La micro-aiguille – collecter chaque goutte en toute sécurité, même chez les animaux particulièrement sensibles, par exemple via un Microtube ou une Microvette®.

En règle générale, la plupart des analyses nécessitent du sang veineux. Dans de rares cas, le sang capillaire ou artériel peut être nécessaire ou avantageux, par exemple pour un examen des gaz du sang (sang artériel) ou en cas de suspicion de babésiose (sang capillaire).



Le traitement de routine suivant est conseillé :

1. Prévoir suffisamment de tubes !
2. Faire appel à un ou une assistante !
3. Se désinfecter les mains ! Gants !
4. Examiner les veines et faire un choix !
5. Tondre et désinfecter !
6. Ne plus palper le site de ponction !
7. Demander à l'assistant ou l'assistante de comprimer !
8. Retirer la gaine de protection de l'aiguille de sécurité !
9. Côté biseauté de l'aiguille vers le haut !
10. Angle de piquûre en dessous de 30° !
11. Tendre la peau ; immobiliser la veine !
12. Le cas échéant, « avertir » le ou la propriétaire !
13. Relâcher la compression dès le début du flux sanguin !
14. Prélever des échantillons ; respecter l'ordre de prélèvement des différents tubes !



« As-tu d'autres conseils pour les prélèvements de sang ? »

« Évidemment ! » Évite les compressions prolongées, qui risqueraient d'affecter certains paramètres, comme le potassium. Évite également le pompage. »

(Moritz et al., 2014)





Regarder la vidéo !



Prélèvement de sang sur un gros chien à l'aide d'une S-Monovette® et d'une aiguille de sécurité

Le **tube de prélèvement sanguin S-Monovette®** vous permet d'effectuer un prélèvement en système clos en choisissant entre deux techniques. La technique d'aspiration permet un prélèvement doux et adapté au flux sanguin. En cas de flux sanguin abondant, le double système de la S-Monovette® vous offre également la technologie conventionnelle du vide pour le prélèvement de sang.

(Soulaïman, 2011)

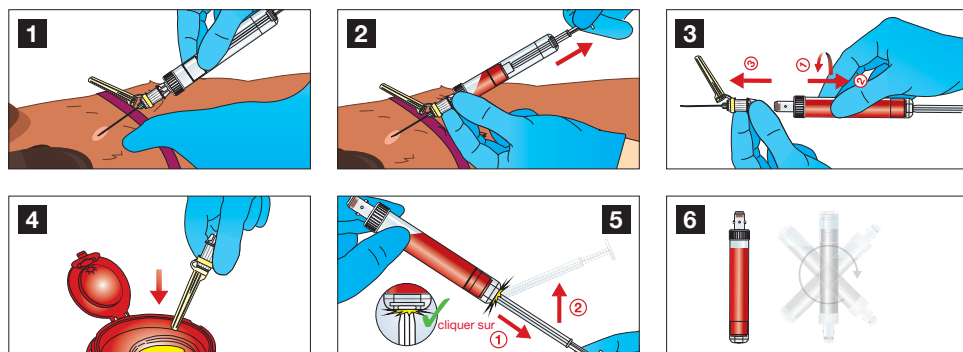


Remarque

« Si l'on n'est pas sûr que la quantité prélevée suffise pour toutes les analyses souhaitées, on peut tout simplement spécifier les priorités du bilan. Attention : si vous ne prélevez qu'un seul tube héparine -lithium et que vous priorisez un paramètre sur plasma, aucun paramètre sur sang total ne pourra être réalisé après centrifugation ! »



Prélèvement de sang avec le système de prélèvement S-Monovette®



Une fois l'animal et le matériel correctement préparés pour le prélèvement de sang, il convient de suivre les étapes ci-après

1. Ponctionner la veine sélectionnée avec l'aiguille de sécurité, qui est reliée à une S-Monovette®.
 2. Tirer lentement la tige de piston de la S-Monovette® vers l'extrémité du tube, ajustée au flux sanguin, jusqu'à ce que celui-ci s'arrête.
 3. La S-Monovette® peut facilement être retirée, par une légère rotation. Connecter alors les S-Monovette suivantes.
 4. Après le prélèvement, l'aiguille de sécurité peut tout simplement être fermée et jetée.
 5. Une fois toutes les S-Monovettes prélevées et le patient animal traité, tirer toutes les tiges de piston des S-Monovettes vers le bas jusqu'à entendre un clic. Briser ensuite les tiges de piston.
 6. Maintenant, agiter plusieurs fois et l'échantillon est prêt pour le laboratoire.
- Afin d'utiliser la technologie du vide avec la S-Monovette®, tirer la tige du piston au maximum, jusqu'à entendre un « clic » et la casser avant le prélèvement de sang. Cela crée un vide « frais » dans le tube. Si cette S-Monovette® est ensuite reliée à l'aiguille, le tube se remplit automatiquement grâce au vide créé.



Prélèvement de sang sur un chat avec une Multivette® 600 et une aiguille Luer

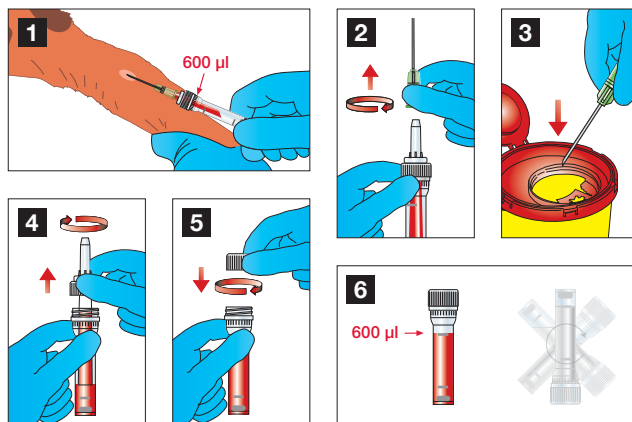
Regarder la
vidéo !



La **Multivette® 600** est conçue et préparée pour de faibles volumes sanguins de 600 μl . Le prélèvement s'effectue dans un système presque clos et utilise la pression veineuse naturelle. Cela rend le prélèvement particulièrement doux et facile.

L'échantillon de sang peut être centrifugé directement dans la Multivette® 600. Cela facilite le prélèvement de sang et fait gagner du temps. Le petit diamètre intérieur facilite notamment le pipetage après centrifugation. De plus, vous pouvez expédier l'échantillon au laboratoire dans un récipient fermé grâce à son bouchon à vis.

Prélèvement de sang avec la Multivette® 600



Une fois l'animal et le matériel correctement préparés pour le prélèvement de sang, il convient de suivre les étapes ci-après :

1. La veine choisie peut être facilement ponctionnée avec la Multivette® et l'aiguille Luer standard. Grâce au capillaire interne, la Multivette® 600 se remplit uniquement par pression veineuse. Cela rend le prélèvement de sang particulièrement doux et facile. La ligne de remplissage indique le volume maximal de la Multivette® 600.
2. Après le prélèvement, retirer l'aiguille Luer.
3. Jeter les aiguilles Luer dans une boîte à déchets appropriée (pour objets piquants, coupants tranchants).
4. Grâce à la conception spéciale de la Multivette® 600, le sang s'écoule du capillaire lorsque la Multivette® est tenue verticalement (il suffit de dévisser le capillaire pour recueillir le sang dans le tube).
5. La Multivette® se ferme avec le bouchon à vis fourni.
6. Maintenant, retourner plusieurs fois le tube et l'échantillon est prêt pour le laboratoire.



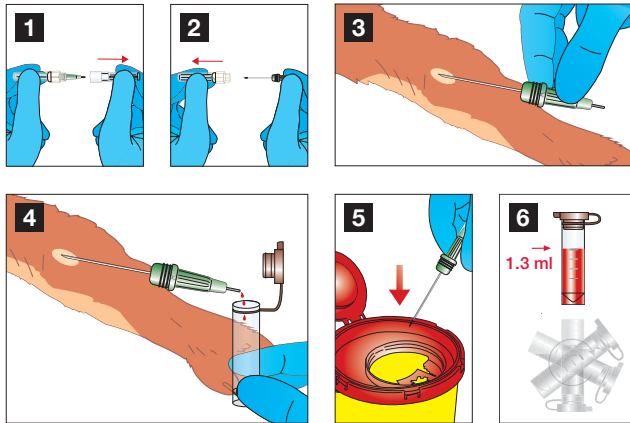
Regarder la
vidéo !



Prélèvement de sang sur un chat avec une Multivette® et une aiguille Luer

Chaque goutte de sang compte, surtout chez les très petits animaux ou pour des veineuses difficiles. La **microaiguille** garantit que chaque goutte de sang coule dans le tube d'échantillon et ne coagule pas au préalable. Vous pouvez sélectionner le tube approprié en fonction du volume d'échantillon attendu. Les Microtubes permettent de recueillir des quantités de 1,3 ml. Pour les patients animaux de petite taille, opter pour une Microvette® en volumes de 100 à 500 µl.

Prélèvement de sang avec micro-aiguille et micro-tube



Une fois l'animal et le matériel correctement préparés pour le prélèvement de sang, il convient de suivre les étapes ci-après :

1. Ouvrir la micro-aiguille du côté transparent.
2. Ensuite, saisir la micro-aiguille par la zone de préhension (partie colorée) pour retirer le capuchon de protection.
3. Ponctionner ensuite la veine choisie.
4. Collecter le sang dans un tube échantillon approprié.
5. Après le prélèvement de sang, jeter la micro-aiguille en toute sécurité dans une boîte à déchets appropriée (pour objets piquants, coupants tranchants).
6. Maintenant, homogénéiser le tube plusieurs fois et l'échantillon est prêt pour le laboratoire.

6. Sécurité durant le prélèvement d'un échantillon



De nombreux agents zoonotiques et leurs dangers pour l'homme sont connus, par exemple les bartonelles, les brucelles, les campylobacters, les chlamydies, les coxielles, les dermatophytes, les giardias, les cryptosporidies, les leptospires, les listerias, les pasteurelles, les rabiesvirus, les salmonelles, les toxoplasmes et de nombreux autres (Jackson et Villarroel, 2012). Il est donc conseillé de mettre en œuvre et de rappeler régulièrement des règles de sécurité appropriées dans son cabinet. Cela inclut le respect de l'hygiène et la prise des mesures de sécurité au travail appropriées (gants, masque si nécessaire, recouvrement des plaies ouvertes, etc.). Éviter toute (ré)utilisation d'équipements potentiellement contaminés ! De même, veiller à ce que les vaccinations soient toujours à jour. Pour les vétérinaires, la Commission permanente pour les vaccinations recommande également la vaccination contre la rage (Bulletin épidémiologique, 2023).

Il convient de mettre à disposition et d'utiliser des poubelles appropriées pour la collecte d'objets pointus ou tranchants. Ces poubelles ne doivent pas être remplies au delà de la limite indiquée sur la boîte.

Consignes de sécurité

- Utiliser uniquement des containers de taille adaptée pour éliminer les différents matériels utilisés.
- Avant de commencer le remplissage, veiller à ce que le couvercle soit en place et verrouillé
- Fixer la boîte à l'aide de l'adaptateur adhésif recommandé en la dévissant ou la fixer au support mural en la suspendant pour éviter qu'elle ne tombe
- Ne pas utiliser le couvercle quotidien pour enfoncer les objets à jeter
- Jeter les scalpels dans la boîte en faisant particulièrement attention (risque de déformation et d'endommager les parois et le fond de la boîte)
- Jeter les objets à éliminer dans une boîte maintenue à la verticale
- Ne pas forcer lors de l'insertion des objets dans la boîte
- Ne pas verser de liquides dans la boîte
- Ne pas mettre pas la main ou toute autre partie du corps dans la boîte (risque de blessure !)
- Ne pas jeter la boîte à terre, ne pas la secouer et ne pas la laisser tomber
- Avant de fermer la boîte, il convient de s'assurer qu'aucun objet ne dépasse de l'ouverture
- Avant de jeter la boîte, vérifier soigneusement que le couvercle est bien fermé

Conseil :

Remplir le Multi-Safe uniquement aux 2/3 environ de son volume !

Ne pas trop remplir le Multi-Safe :

Risque de blessure !

Faire attention à la ligne de remplissage !



Traitement des échantillons

Important : Avant tout traitement ultérieur, s'assurer que les échantillons peuvent être clairement attribués au patient animal et qu'ils sont correctement étiquetés ! De plus amples informations figurent au chapitre 8 « Étiquetage, stockage et transport ».



Les tubes sont correctement étiquetés si :

- une vision claire du contenu est assurée.
- il est possible de vérifier le niveau de remplissage.
- le bouchon à vis peut être retiré sans problème.
- Ne pas laisser les tubes et les étiquettes se coincer ou coller l'une à l'autre dans la centrifugeuse.



« Je vais apporter les échantillons directement pour la suite du traitement... ».

« Stop ! Les échantillons ne peuvent quitter la salle de prélèvement et le patient animal qu'une fois qu'ils ont été étiquetés avec le code à barres attribué au patient animal concerné. »



7. Préparation pour l'analyse biologique



Avant de pouvoir analyser les échantillons sur place ou de les envoyer à un laboratoire externe, il convient de préparer les échantillons de sang en conséquence. L'utilisation de sérum ou de plasma au lieu de sang total présente plusieurs avantages et est souvent la méthode privilégiée pour les raisons décrites ci-après :

- Stabilité et durée de conservation : Les échantillons de sérum ont généralement une durée de conservation plus longue que les échantillons sur sang total. Cela permet d'éviter l'hémolyse liée au stockage. Cette précaution est particulièrement importante si l'échantillon est transporté sur de longues distances ou si des tests sont effectués à une date ultérieure.
- Standardisation : L'utilisation d'échantillons de sérum ou de plasma est standardisée dans les laboratoires et sur les analyseurs.
- Meilleure précision et reproductibilité : La centrifugation rapide des échantillons permet d'améliorer la précision et la reproductibilité des tests de laboratoire (surtout pour les appareils utilisés en interne).

Néanmoins, il existe des situations où des échantillons de sang total sont nécessaires, notamment pour effectuer des tests sur les cellules sanguines elles-mêmes. C'est le cas de toutes les analyses hématologiques. Étant donné que les cellules sanguines sont très sensibles aux changements liés au stockage, à la température, au transport et au temps, l'analyse doit idéalement avoir lieu quelques heures après le prélèvement de sang (sang total conservé au réfrigérateur). Afin d'éviter ces changements (la dégénérescence cellulaire commence immédiatement après le prélèvement de sang), il convient d'effectuer immédiatement des frottis sanguins.

7.1. Centrifugation

La centrifugation des échantillons de sang est utilisée pour séparer les composants solides (cellules, caillots) des composants liquides.

Il est possible d'utiliser différentes centrifugeuses à cet effet mais le point crucial est que les échantillons doivent, dans le meilleur des cas, être centrifugés directement dans le cabinet. Ce qui est important ici, c'est qu'une distinction soit faite entre la vitesse et la force g (force gravitationnelle). La force g est la valeur pertinente pour un bon résultat de centrifugation. Elle est donc particulièrement importante lors de la mise en place de la centrifugeuse.

Le nombre g peut être calculé en indiquant le rayon (cm) et le nombre de tours/minute (rpm ou upm) :

$$g = 11,18 \times r \times \left(\frac{n}{1000}\right)^2$$

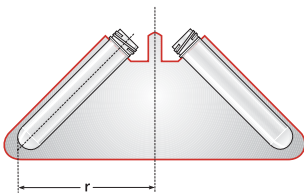
r = rayon en cm
n = vitesse par min (min⁻¹)

Pour convertir la force g en vitesse/minute [min⁻¹] ou vice versa, vous pouvez utiliser le calculateur de centrifugation sur <https://www.sarstedt.com/fr/service/centrifugation/>.

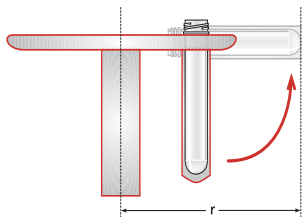


Vous trouverez le rayon de centrifugation r dans les indications du fabricant de la centrifugeuse ou vous pouvez le déterminer à l'aide de la figure ci-après :

Rotor à angle fixe



Rotor à oscillation



Remarque

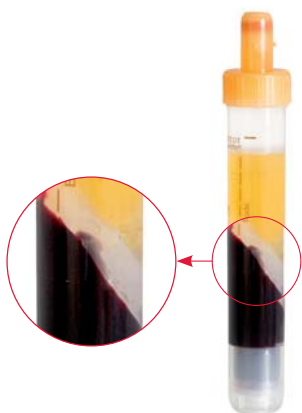
« La centrifugation est un processus physique de séparation basé sur des rapports de densité différents entre les substances, par exemple les cellules sanguines et le plasma. »



Différence entre le rotor à angle fixe et le rotor à oscillation

Nous recommandons uniquement d'utiliser des rotors à oscillation pour les « monovettes » avec gel. Le tube dans une centrifugeuse à angle fixe est monté de manière rigide dans un angle oblique. Au cours de la centrifugation, le tube positionné sur un rotor oscillant se déplace d'une position verticale à une position horizontale. Autrement dit, la force peut agir uniformément du couvercle vers le bas pendant la centrifugation. Le résultat est une couche de gel horizontale bien formée.

Rotor à angle fixe

























Rotor à oscillation



Les échantillons de sérum et de plasma sont généralement centrifugés à 2 000 × g pendant environ 10 à 15 minutes.

Après centrifugation, le sérum ou le plasma est séparé du reste de l'échantillon sanguin afin d'éviter toute hémolyse ultérieure.

Temps de centrifugation minimum

Selon BS 4851 (code UE)	Selon DIN ISO 6710 (code ISO)	S-Monovette®	Accélération centrifuge relative (g)				
			2 000 × g	2 500 × g	3 000 × g*	3 500 × g*	4 000 × g*
		Sérum	10 min	10 min	6 min	4 min	4 min
		Sérum gel	15 min	10 min	4 min	4 min	4 min
		Li-héparine	10 min	10 min	7 min	7 min	7 min
		Li-héparine gel	15 min	15 min	10 min	7 min	7 min
		Li-héparine gel+	8 min	7 min	5 min	4 min	4 min
		EDTA-gel	15 min	10 min	10 min	7 min	7 min
		Citrate	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Fluorure	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		GlucoEXACT	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Citrate PBM 1,8 ml Rayon de centrifugation > 17 cm	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Citrate PBM 1,8 ml Rayon de centrifugation > 9 à ≤ 17 cm	n.v.	n.v.	10 min	n.v.	n.v.

n.v. = non validée

Centrifugation à 20 °C

* Valable pour toutes les S-Monovettes à l'exception de la variante Ø 8 mm (S-Monovette Pédiatrie).

Recentrifugation

La centrifugation répétée des tubes d'échantillons est déconseillée (CLSI, 2010).

Cela conduirait à une migration des composants sanguins lysés de la phase cellulaire vers le sérum ou le plasma. En conséquence, les paramètres cellulaires sensibles tels que le potassium, le phosphate, le glucose ou la LDH sont modifiés (Hue *et al.*, 1991).

7.2. Comment préparer un frottis sanguin ?



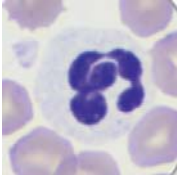
« Puis-je utiliser n'importe quel sang pour le frottis sanguin ? »

« Non » Le sang doit être anticoagulé. Ne jamais utiliser le sang total du tube sérum ou les dernières gouttes de l'aiguille de prélèvement. L'anticoagulant idéal est l'EDTA. En cas de nécessité, vous pouvez également utiliser de l'héparine de lithium ou du citrate. »

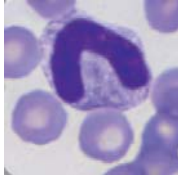


Comme indiqué ci-dessus, il convient d'envoyer un ou plusieurs frottis sanguins pour chaque prélèvement de sang. C'est notamment le cas lorsqu'une analyse cytomorphologique est également souhaitée, par exemple pour vérifier l'hémogramme déterminé par l'analyseur ou lorsque des précurseurs érythrocytaires nucléés, des modifications de la morphologie des érythrocytes, des leucocytes atypiques, un déplacement à gauche ou des agrégats sont suspectés.

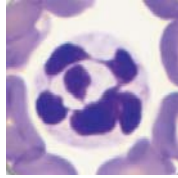
Hématologie – Chien



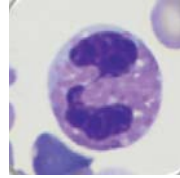
Granulocyte neutrophile polynucléaire



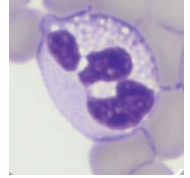
Granulocyte neutrophile polynucléaire



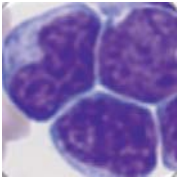
Granulocyte neutrophile polynucléaire



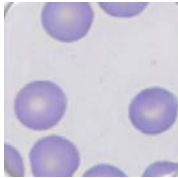
Granulocyte éosinophile polynucléaire



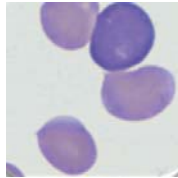
Granulocyte éosinophile polynucléaire chez le lévrier



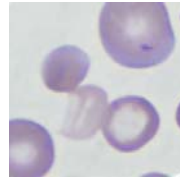
Gros lymphocytes néoplasiques atypiques



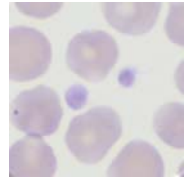
Érythrocytes physiologiques



Polychromasie

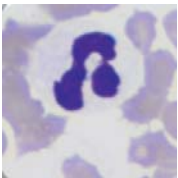


Anisocytose

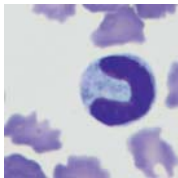


Thrombocytes physiologiques

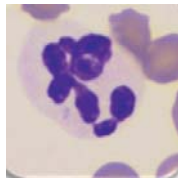
Hématologie – Chat



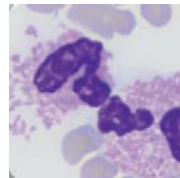
Granulocyte neutrophile polynucléaire



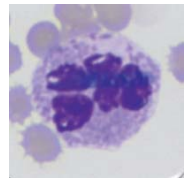
Granulocyte neutrophile polynucléaire



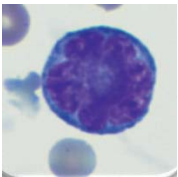
Granulocyte neutrophile polynucléaire



Granulocytes éosinophiles polynucléaires



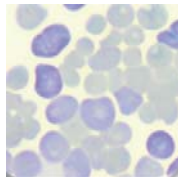
Granulocyte basophile polynucléaire



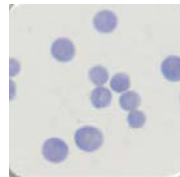
Lymphocyte de taille moyenne, basophile foncé, atypiquement réactif



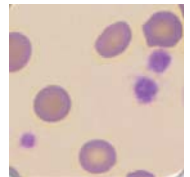
Érythrocytes physiologiques



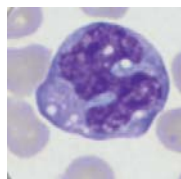
Polychromasie



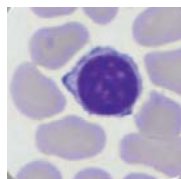
Anisocytose



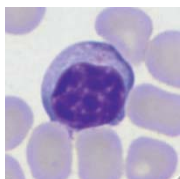
Thrombocytes physiologiques



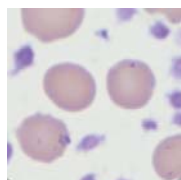
Monocyte activé



Petit noyau mûr
Lymphocyte standard



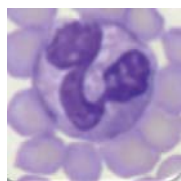
Petit lymphocyte réactif à
noyau mûr



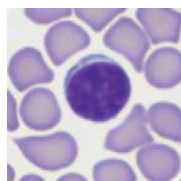
Thrombocytose



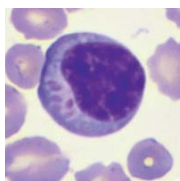
Macrothrombocytes



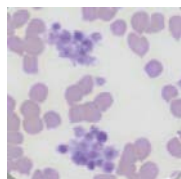
Monocyte



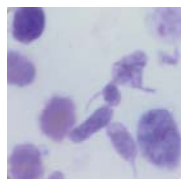
Petit noyau mûr
Lymphocyte standard



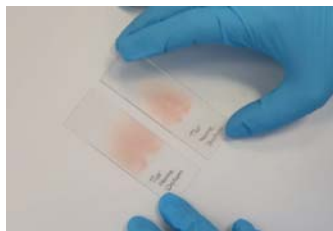
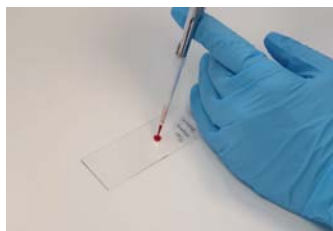
« Large Granular
Lymphocyte » ou grand
lymphocyte granulaire
(LGL)



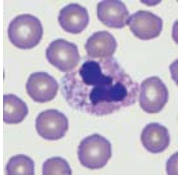
Agrégats
thrombocytaires



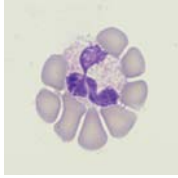
Thrombocytes atypiques



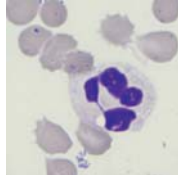
Hématologie – petits mammifères



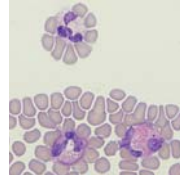
Granulocyte hétérophile polynucléaire lapin



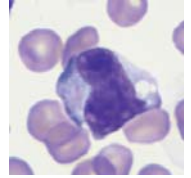
Granulocyte hétérophile polynucléaire cochon d'Inde



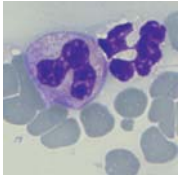
Granulocyte neutrophile polynucléaire furet



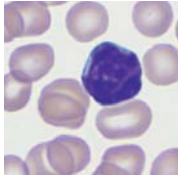
Hétérophile (en haut), éosinophile (en bas) Cochon d'Inde



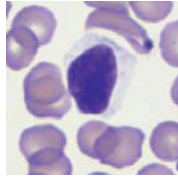
Monocyte activé lapin



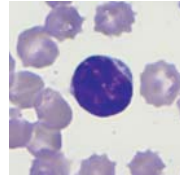
Granulocyte éosinophile furet



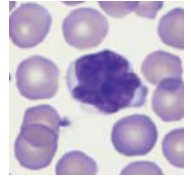
Petit lymphocyte standard à noyau mûr cochon d'Inde



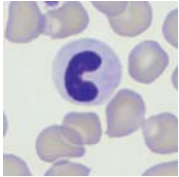
Petit lymphocyte réactif à noyau mûr lapin



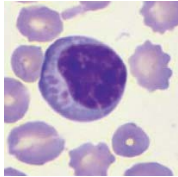
Lymphocyte standard furet



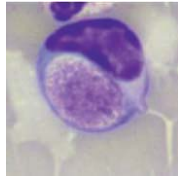
Lymphocyte atypique réactif encoché lapin



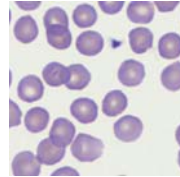
Granulocyte neutrophile à bâtonnet furet



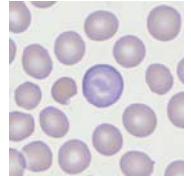
« Large Granular Lymphocyte » ou grand lymphocyte granulaire (LGL) cochon d'Inde



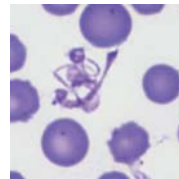
Cellules Foa-Kurloff cochon d'Inde



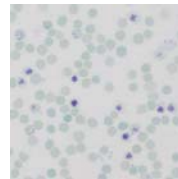
Érythrocytes physiologiques lapin



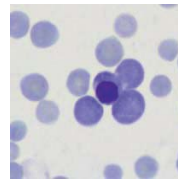
Anisocytose, polychromasie lapin



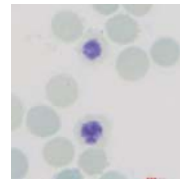
Thrombocytes atypiques cochon d'Inde



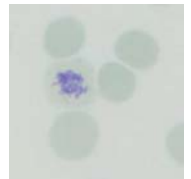
Réticulocytes - vue d'ensemble lapin



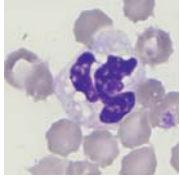
Normoblaste lapin



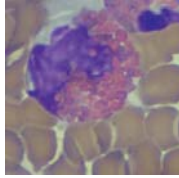
Réticulocytes groupe I Lapin



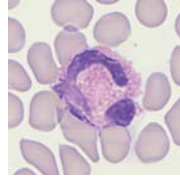
Réticulocytes groupe II Lapin



Monocyte furet



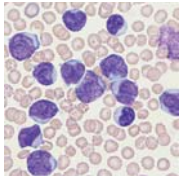
Granulocyte éosinophile lapin



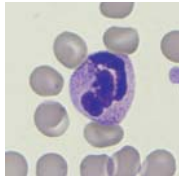
Granulocyte éosinophile cochon d'Inde



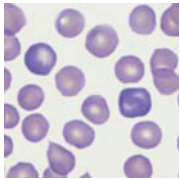
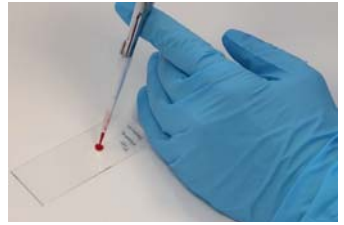
Sites de ponction chez le cochon d'Inde
Li. : Veine saphène : Ponction lat. du tendon d'Achille (tiers moyen de la jambe) à un angle < 45°
Re. : Veine céphalique antébrachiale



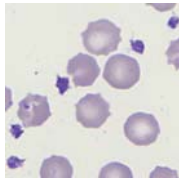
Gros lymphocytes néoplasiques atypiques, lymphome de stade V



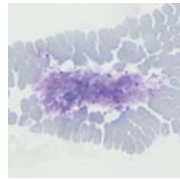
Granulocyte basophile cochon d'Inde



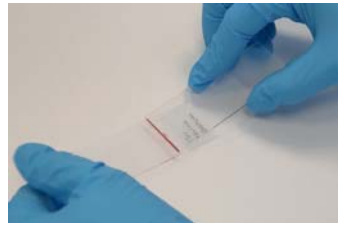
Polychromasie lapin



Thrombocytes furet



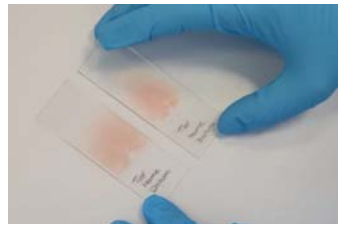
Agrégats thrombocytaires furet



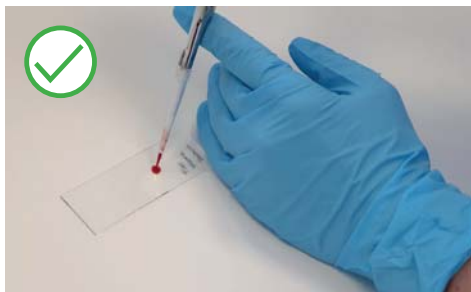
Réticulocytes groupe III Lapin



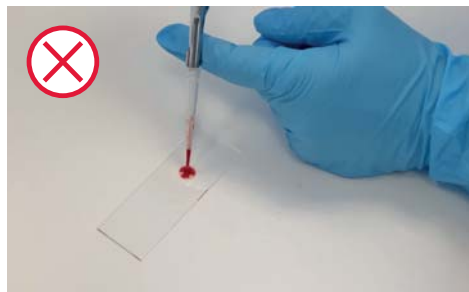
Réticulocytes groupe IV Lapin



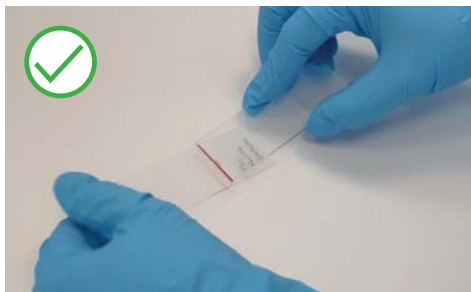
A faire et à ne pas faire lors de la réalisation d'un frottis de sang



La lame est étiquetée avec un crayon (ou un autre stylo à alcool et indélébile). Verser une goutte de sang (environ 10 μ l) sur la lame.



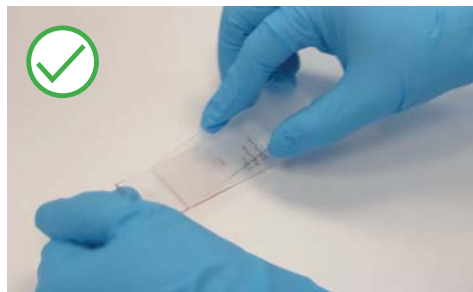
Si l'étiquette fait défaut, le frottis ne peut être attribué à aucun patient. La goutte de sang versée est beaucoup trop grosse.



Une deuxième lame est placée devant la goutte de sang. Ramener la lame en stries vers la goutte de sang jusqu'à ce que tout le sang soit réparti le long du bord.



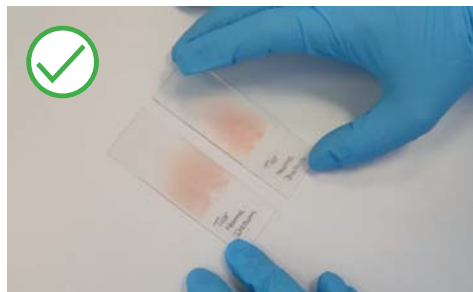
La goutte de sang ne se répartit pas uniformément le long du bord de la lame. Cause : La lame n'est pas à plat ou la répartition de la pression n'est pas uniforme.



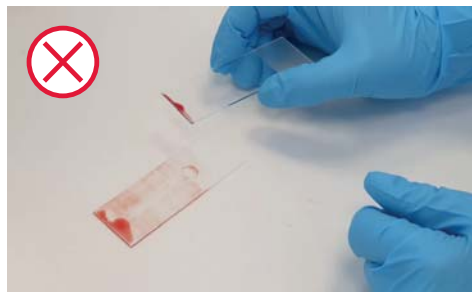
D'un mouvement rapide et régulier, faire glisser vers l'autre extrémité de la lame à plat (angle d'environ 45°).



Un étalement trop lent entraîne des « arrêts ». En raison d'une pression trop élevée et d'un volume d'échantillon trop important, tout le sang est poussé vers l'extrémité du frottis.



On peut voir un frottis fini en « forme de langue », de gauche à droite : corps, monocouche (zone d'évaluation) et drapeau. Important : Penser à sécher à l'air avant de colorer et d'emballer dans un récipient d'expédition !



Aucune division en corps, monocouche et drapeau n'est visible. Le frottis sanguin est très hétérogène sans zone de lecture et toute lecture est impossible !



Conseils et astuces Frottis sanguin d'un chien (F) et d'une souris (A) :

« Souris, j'ai du mal à faire de beaux frottis sanguins, peux-tu m'aider ? »

« Bien sûr, que veux-tu savoir exactement ? »



Le frottis sanguin ne ressemble pas à une langue, il a la même épaisseur d'avant en arrière et s'étend sur le bord. Où est l'erreur ?

La goutte de sang ou le volume de sang était probablement trop important. Avec moins de sang, cela devrait mieux marcher. Si le frottis est trop court, il suffit d'augmenter lentement le volume sanguin. Chez les animaux anémiques dont le sang est très liquide, il est judicieux d'utiliser une goutte de sang plus petite.

Il se peut également que l'angle du frottis soit trop faible ($< 45^\circ$). L'angle contrôle la longueur du frottis. Un angle prononcé ($> 45^\circ$) donne un frottis plutôt court tandis qu'un angle faible ($< 45^\circ$) donne un frottis long.

Mon frottis sanguin n'est pas homogène mais contient des « arrêts ». Comment puis-je changer cela ?

Ces « arrêts » peuvent avoir diverses causes. Ils sont souvent causés par l'étalement très lent d'une grande quantité de matériau. Il est également important de ne pas ralentir lors de l'étalement. Une fois l'étalement commencé, il faut le terminer rapidement.

Mon frottis sanguin a des épaisseurs différentes des deux côtés et présente des stries. Pourquoi ?

Il est très probable que la lame/lamelle striée n'ait pas été placée à plat sur l'autre lame ou que les conditions de pression pendant l'étalement n'étaient pas uniformément réparties. Il est préférable de placer la lame/la lamelle bien devant la goutte de sang et de la déplacer d'avant en arrière. Cela permet de ressentir la pression et de voir si quelque chose grince. Parfois la coupe n'est pas idéale ou il y a de la saleté

sur la lame. On peut essayer de la nettoyer ou d'en utiliser une nouvelle pour l'étalement.

Les cellules de mes frottis sanguins sont brisées, pourquoi ?

Une pression excessive a probablement été exercée. Vous pouvez pratiquer cela en étalant avec une lamelle. Si la pression exercée est trop forte, elle se cassera très rapidement. Cependant, les cellules sanguines sont parfois très fragiles et se décomposent rapidement (par exemple en cas de leucémie, d'inflammation sévère ou d'anémie).

Mon frottis sanguin est beaucoup trop épais et trop court, pourquoi ?

Il se peut que la lame soit retenue trop fortement. Un angle moins profond entraîne un frottis plus long.

Y a-t-il un endroit où je peux voir comment faire un frottis ?

Oui. Nous avons mis à disposition sur YouTube, par exemple, une vidéo à ce sujet « LABOKLIN – Frottis sanguins » (voir page 54).

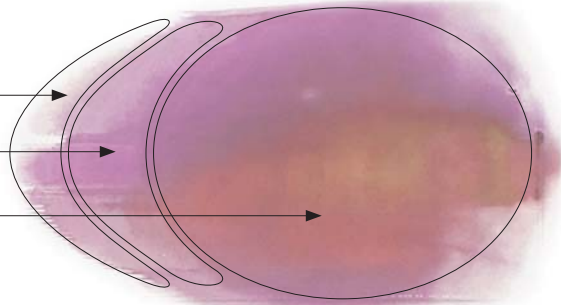
Combien de frottis sanguins dois-je faire avant d'en obtenir un « parfait » ?

Une question légitime à laquelle je ne peux malheureusement pas répondre de manière générale. Mais je peux promettre que cela fonctionnera à un moment donné, et ensuite vous pourrez toujours le répéter. Faire un bon frottis sanguin interprétable est typiquement une question de pratique. Que ce soit ou non de l'art, c'est dans l'œil du spectateur.

Drapeau

Monocouche

Corps



Différentes zones d'un frottis sanguin

8. Étiquetage, stockage et transport



Selon les paramètres d'analyse, il est important de tenir compte de certains éléments après avoir effectué le prélèvement. Si certaines analyses sont possibles à partir de matériel plus ancien et non réfrigéré (principalement les analyses portant sur le patrimoine génétique, par exemple pour le diagnostic d'agents pathogènes par PCR), d'autres nécessitent une réfrigération continue.

Dans tous les cas, il est important de minimiser les fortes variations de température, y compris avant l'expédition à un laboratoire externe, par exemple en évitant de surchauffer l'échantillon dans une voiture (Humann-Ziehank et Ganter, 2012). Certaines analyses exigent une protection supplémentaire contre la lumière, par exemple un test de bilirubine (Braun *et al.*, 2015). Il convient de vérifier les recommandations de stockage des échantillons pour chaque paramètre. Vérifier la liste des paramètres particulièrement sensibles. Il est important de noter que non seulement les blocs (réfrigérants), mais aussi les échantillons doivent être pré-tempérés de manière appropriée avant le transport, car la capacité de refroidissement/congélation du bloc et de la boîte ne suffit pas à elle seule pour refroidir ou congeler les échantillons de manière adéquate. Il existe des récipients spécifiques: une boîte en polystyrène et un accumulateur spécial de refroidissement/congélation d'échantillons qui permet de refroidir 2 tubes d'échantillons par récipient. Veiller à ce que le matériau centrifugé soit toujours conservé au réfrigérateur ; pour une conservation plus longue, une température de conservation de -20 °C, ou mieux encore de -70 °C, est recommandée (Moritz *et al.*, 2014).



« La qualité des échantillons de tubes sérum centrifugés et décantés est meilleure lorsqu'il est congelé ; éviter toutefois les congélations et décongélations répétées. »

« Tout à fait ! » Mais attention : En aucun cas le sang total ne doit être congelé ! Le résultat serait une hémolyse complète ! »

« Par ailleurs, les frottis sanguins ne doivent pas être congelés ni mis au réfrigérateur. »

(Vap et al., 2012)



Liste de contrôle pour le transport

- Sceller les échantillons (éviter l'évaporation)
- Conserver le sérum/plasma à une température comprise entre 4 et 8 °C
- Stocker à l'horizontale
- Conserver l'EDTA pour l'hémoGramme à température ambiante
- Éviter les congélations et décongélations répétées
- Protéger les paramètres photosensibles (par exemple, la bilirubine)
- Utiliser une préparation spéciale pour la stabilisation (par exemple, le gel S-Monovette® HCY-Z pour l'homocystéine)



Un emballage et un étiquetage soignés sont également importants. Cela garantit la répartition correcte de l'échantillon dans le laboratoire, évite la perte d'échantillon due à une fuite et protège toutes les personnes entrant en contact avec l'échantillon. Par exemple, les gants de laboratoire ne sont pas un emballage adéquat pour les échantillons de selles, tout comme les échantillons d'urine dans des pots de confiture présentent un risque de casse ainsi que la possibilité d'une valeur de glucose faussement élevée, et les seringues avec leurs aiguilles sont une source de danger inutile (et malheureusement souvent sous-estimée). En cas d'envoi d'échantillons au potentiel zoonotique particulièrement élevé (par exemple de singes ou de chiens suspectés de leptospirose), il convient d'en informer le laboratoire à l'avance et de faire figurer les informations correspondantes de manière claire sur l'emballage extérieur.

Matériau

Cachet du cabinet

Données des patients

Tâches à effectuer

Demande d'analyses

Général

Heures d'ouverture: Lundi - Vendredi: 8h - 12h et de 14h - 19h, Samedi: 8h - 12h

Demandeur-Vétérinaire (coordonnées complètes)	Echantillon: <input type="checkbox"/> Sang EDTA <input type="checkbox"/> Sérum <input type="checkbox"/> Plasma <input type="checkbox"/> Urine/ Calcul <input type="checkbox"/> Fèces <input type="checkbox"/> Peau/Poils <input type="checkbox"/> Ecouvillon <input type="checkbox"/> Ponction <input type="checkbox"/> LCR	Propriétaire de l'animal (si musculaires s.v.p.) Nom: _____ Prénom: _____ Rue: _____ CP, Ville: _____ Fax/e-mail: _____ Téléphone: _____
---	---	--

Si vous êtes propriétaire à Laboklin, veuillez à l'envoi de l'échantillon en mentionner le numéro de dossier et le nom de l'animal. Pour les analyses parasitaires contactez le service de diagnostic parasitaire.

Tous autres renseignements de votre intérêt de confidentialité et de protection des données, voir: info@laboklin.com

LABOKLIN

LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK GMBH & CO. KG
35, rue Mittelhauser - F-67690 Lauterbourg
Tél. 09 67 32 85 80
Mail: labo.france@laboklin.com

Code à barres

Le ou la propriétaire

Fax/e-mail: _____

Numéro de T.V.A. _____

Date et signature Vétérinaire _____ Coursier

chien chat cheval autre espèce: _____ Nom: _____
 Sexe: f m l.c. m.c. Race: _____ Age: _____

Prélèvement: hémolytique icterique lipémique centrifugé réfrigéré/congelé

Date de prélèvement: _____ Complément d'analyses au résultat N°: _____ N° fiche client: _____

Bilans POITIN ANIMAUX Grand bilan (chien, chat) + NFS 001 (hématologie, DOG, fosse, glucose, fruct, cholest, séf, AP, vGT, CLDH, ALAT, ASAT, CK, protéine, albumine, globuline, électrolytes, urée, créa, PDA, Mg, Ca, K, Na, Na/K, Phos, P)	Bilans V.C.A.C. Petits Mammifères + NFS 002 (urée, créatinine, protéines, ALAT, GLDH, PAl, vGT, ASAT, CK, acide biliaire, fructosamine, K, Na, Ca, Mg, phosphates)	Hématologie NFS 003 Hémog. complet avec réticulocytes et CR (CNCT)
Petit bilan (chat) + NFS 004 (FOD, FAV, FIV, protéines, albumine, électrolytes/globulines)	Bilan furet + NFS 005 (glucose, fructosamine, triglycérides, ALAT, GLDH, ASAT, CK, protéine, albumine, globulines, urée, créatinine)	NFS réduite 006 Examens de frottis sanguin
Grand bilan (chat) + NFS 007 (Grand bilan + FOV, FAV, FIV)	Bilan biochimie reptiles 008 (PAl, GLDH, ALAT, ASAT, acide biliaire, CK, protéines, triglycérides, cholestérol, urée, acide urique, phosphates, Ca, K, Na)	Recherche d'Helicobacter 009 Cytologie moelle osseuse et NFS Thrombocytopénie Grand Profil (chien)
Bilan + PIF + (chat) 010 (PFT, sérum, protéines et électrophorèse, AC, FCV)	Bilan biochimie oiseaux 011 (SUF, ASAT, urée, acide urique, acide biliaire, cholestérol, CK, protéine, Na, Ca, K, phosphates, triglycérides, créatinine, GLDH)	Hémostase Bilan coagulation I 012 PT, PTT, fibrinogène, D-Dimères
Bilan "FIV" (chat) + NFS 013 (Sérum, créatinine, ALAT, PAl, GLDH, CDK/CKE, PCR FIV, quantitatif "sang EDTA-AB")	Bilans Grand Animaux Grand bilan 014 Analyse complétée	Fibrinogène I 015 Fibrinogène V10 (Fibrin) 016

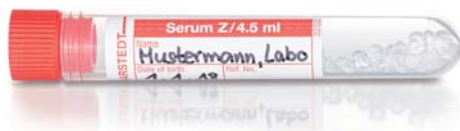
Étiquetage idéal de la demande d'analyse : indiquer chaque paramètre souhaité. **Important : Ne pas oublier le rapport préliminaire et les éventuels prétraitements !**

Remarque

« Le tube échantillon adapté est toujours indiqué directement sur la demande, à côté de l'analyse souhaitée. Un simple coup de fil au labo peut également aider en cas de doutes ! »



L'étiquetage comprend non seulement des informations sur le patient animal, y compris le code à barres spécifique du cabinet, mais également des informations sur le type d'échantillon (Gunn-Christie *et al.*, 2012) : s'agit-il d'un échantillon d'urine, de sérum ou de liquide céphalo-rachidien ? Plasma EDTA centrifugé, plasma citraté ou plasma héparine de lithium ? Cette information n'est pas toujours immédiatement visible, mais elle peut déterminer si un examen particulier est possible à partir du matériel envoyé. Il est possible d'économiser des ressources et du temps pour le personnel du cabinet et du laboratoire si le tube est déjà correctement étiqueté.



Afin de garantir qu'un échantillon soit attribué à un patient, les informations sur le patient concerné doivent être notées non seulement sur la demande d'examen, mais également directement sur l'échantillon. Particulièrement important ici : Le code à barres sur l'échantillon doit correspondre à celui qui figure sur la demande d'analyse !

Prudence avec les tubes avec bouchon rentrant attachés : ils risquent de s'ouvrir pendant le transport et de fuir.

Un emballage extérieur approprié (récipient secondaire) pour chaque échantillon individuel, avec matière absorbante, garantit une protection maximale. Tous les échantillons, y compris le récipient secondaire, doivent ensuite être reconditionnés dans un emballage extérieur !





« L'expéditeur est toujours responsable du transport approprié des échantillons ! »



Tout échantillon doit être étiqueté sur l'emballage extérieur : soit avec la mention « échantillon vétérinaire exempté » pour les échantillons non infectieux, soit avec l'étiquette UN3373 conformément au règlement sur les substances dangereuses pour les échantillons vétérinaires potentiellement infectieux.



Les exigences d'emballage les plus importantes sont les suivantes :

- Suffisamment résistant pour que les chocs/charges (vibrations/ changements de température/d'humidité/de pression) lors du transport normal ne puissent pas provoquer d'endommagement/de fuite du contenu.
- Un récipient d'échantillon ou un récipient primaire et un récipient d'expédition supplémentaire ou un emballage secondaire ainsi qu'un emballage extérieur sont nécessaires, l'emballage secondaire ou extérieur (par exemple housse de protection/sac d'expédition) devant être rigide. Pour le transport aérien, un emballage extérieur rigide est toujours nécessaire et doit résister à une pression interne de 95 kPa (0,95 bar) et à des températures allant de -40 à 55 °C (voir ici les exigences de IATA/Post/DHL).
- L'emballage extérieur doit avoir une surface d'au moins 100 × 100 mm.
- Le colis doit passer un test de chute d'une hauteur d'au moins 1,2 m.

Bibliographie

Berlanda, Michele; Valente, Carlotta; Bonsembiante, Federico; Badon, Tamara; Bedin, Silvia; Contiero, Barbara *et al.*, (2020): Evaluation of an automated immunoturbidimetric assay for detecting canine C-reactive protein. Dans : Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 32 (6), S. 948–952. DOI : 10.1177/1040638720960065.

Braun, Jean-Pierre; Bourgès-Abella, Nathalie; Geffré, Anne; Concordet, Didier; Trumel, Cathy (2015): The preanalytic phase in veterinary clinical pathology. Dans : Veterinary clinical pathology 44 (1), S. 8–25. DOI : 10.1111/vcp.12206.

CLSI, GP44-A4 2010; § 5.4.3

Epidemiologisches Bulletin 4/2023, zuletzt aufgerufen im Juli 2023, https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/STIKO/Empfehlungen/Empfehlungen_node.html

Gaskill, C. L.; Burton, S. A.; Gelens, H. C.; Ihle, S. L.; Miller, J. B.; Shaw, D. H. *et al.*, (2000): Changes in serum thyroxine and thyroid-stimulating hormone concentrations in epileptic dogs receiving phenobarbital for one year. Dans : Journal of veterinary pharmacology and therapeutics 23 (4), S. 243–249. DOI : 10.1046/j.1365-2885.2000.00278.x.

Gunn-Christie, Rebekah G.; Flatland, Bente; Friedrichs, Kristen R.; Szlodovits, Balazs; Harr, Kendal E.; Ruotsalo, Kristiina *et al.*, (2012): ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical, analytical, and postanalytical factors for urinalysis, cytology, and clinical chemistry in veterinary laboratories. Dans : Veterinary clinical pathology 41 (1), S. 18–26. DOI : 10.1111/j.1939-165X.2012.00412.x.

Gurr *et al.*; Musterstandardarbeitsanweisung Präanalytik; J Lab Med (2011)

Hue *et al.*, (1991): Observed changes in serum potassium concentration following repeat centrifugation of SARSTEDT Serum Gel Safety Monovettes after storage; Ann Clin Biochem; 28: 309-10

Humann-Ziehank, E.; Ganter, M. (2012): Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. Dans : Animal: an international journal of animal bioscience 6 (7), S. 1115–1123. DOI : 10.1017/S1751731111002679.

Jackson, J.; Villarroel, A. (2012): A survey of the risk of zoonoses for veterinarians. Dans : Zoonoses and public health 59 (3), S. 193–201. DOI : 10.1111/j.1863-2378.2011.01432.x.

Martínez-Subiela, S.; Tecles, F.; Montes, A.; Gutiérrez, C.; Cerón, J. J. (2002): Effects of haemolysis, lipaemia, bilirubinaemia and fibrinogen on protein electropherogram of canine samples analysed by capillary zone electrophoresis. Dans : *Veterinary journal* (London, England: 1997) 164 (3), S. 261–268. DOI : 10.1053/tvjl.2001.0672.

Moritz, A.; Schwendewein, I.; Kraft, W. (2014) In: Moritz, A (Hrsg.). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 7 Aufl. Schattauer GmbH, Stuttgart.

Nardini, Giordano; Leopardi, Stefania; Bielli, Mattia (2013): Clinical hematology in reptilian species. Dans : *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice* 16 (1), S. 1–30. DOI : 10.1016/j.cvex.2012.09.001.

Schrader, C.; Schielke, A.; Ellerbroek, L.; John, R. (2012): PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. Dans : *Journal of applied microbiology* 113 (5), S. 1014–1026. DOI : 10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x).

Sharratt, C. L.; Gilbert, C. J.; Cornes, M. C.; Ford, C.; Gama, R. (2009): EDTA sample contamination is common and often undetected, putting patients at unnecessary risk of harm. Dans : *International journal of clinical practice* 63 (8), S. 1259–1262. DOI : 10.1111/j.1742-1241.2008.01981.x.

Sulaiman, R. A.; Michael P Cornes, M. P.; Whitehead, S. J.; Othonos, N.; Ford, C.; Gama, R. (2011): Effect of order of draw samples during phlebotomy on routine biochemistry results. *J Clin Pathol*. 64(11): 1019-20

Vap, Linda M.; Harr, Kendal E.; Arnold, Jill E.; Freeman, Kathleen P.; Getzy, Karen; Lester, Sally; Friedrichs, Kristen R. (2012): ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical and analytical factors for hematology for mammalian and nonmammalian species, hemostasis, and crossmatching in veterinary laboratories. Dans : *Veterinary clinical pathology* 41 (1), S. 8–17. DOI : 10.1111/j.1939-165X.2012.00413.x.

Xenoulis, P. G.; Steiner, J. M. (2015): Canine hyperlipidaemia. Dans : *The Journal of small animal practice* 56 (10), S. 595–605. DOI : 10.1111/j.sap.12396.

Zaldivar-López, S.; Marín, L. M.; Iazbik, M. C.; Westendorf-Stingle, N.; Hensley, S.; Couto, C. G. (2011): Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. Dans : *Veterinary clinical pathology* 40 (4), S. 414–425. DOI : 10.1111/j.1939-165X.2011.00360.x.

SARSTEDT S.A.R.L

Route de Gray
Z.I. des Plantes
70150 Marnay

Tel: +33 384 31 95 95

Fax: +33 384 31 95 99

info.fr@sarstedt.com · www.sarstedt.com



SARSTEDT