

Validation d'un automate d'hématologie et établissement d'intervalles pour les paramètres hématologiques du porcelet autour du sevrage

Mily LEBLANC-MARIDOR (1), Dorothée PICQ (1), Corentin MONTFORT (1), Arnaud BUCHET (2), Blandine Lieubeau (3), Julie HERVE (3), Catherine BELLOC (1)

(1) INRAE, Oniris, BIOEPAR, 44300 Nantes, France

(2) Cooperl Innovation SAS, 22640 Plestan, France

(3) IECM USC 1383, Oniris, INRAE, 44300 Nantes, France

mily.leblanc-maridor@oniris-nantes.fr

Validation of a automated hematology analyzer and establishment of hematologic intervals for piglets around weaning

The objective of this study was to (i) validate the current automated hematology analyzer ProCyte Dx (IDEXX®) and (ii) determine intervals of hematologic parameters for piglets around weaning. A total of 590 blood samples were collected from 288 non-castrated male piglets (NUCLEUS genetics) from 16 farms two days before weaning and one week after weaning, at 26 and 35 days of age, respectively. The samples were analyzed within four hours of sampling using the ProCyte Dx. In parallel, a blood smear (the gold standard manual method) was performed and read for each sample (for some samples, a micro-hematocrit was performed). Data for erythrocyte, leukocyte and thrombocyte lineages obtained with the automated analyzer were described and compared to those from the blood smears. Using Reference Value Advisor v2.1 software, we obtained reference values for swine hematologic parameters around weaning. The ProCyte Dx is validated for erythrocyte lineage and for differential leukocyte counts in five populations (monocytes, lymphocytes, neutrophil granulocytes, basophils and eosinophils). Nevertheless, analyzing a blood smear remains necessary to confirm morphological abnormalities (detected by analyzing cell-distribution graphs with the automated analyzer) and platelet count (as platelet aggregates are rarely detected by the automated analyzer). Compared to adult swine hematologic values, those for weaning piglets like for finishing piglets in literature indicate a higher leukocyte upper limit ($32.5 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ versus $24 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ for sows) and a large number of reticulocytes before weaning (up to 7.4% at 26 days) which then decreases over time (3.4% at 35 days and 1.0% in adults).

INTRODUCTION

A l'heure actuelle, l'hématologie chez le porc reste peu utilisée sur le terrain en termes d'examen complémentaire, à la fois pour des raisons de faisabilité et d'interprétation (Thorn, 2010). Alors qu'il ne semble pas y avoir beaucoup d'impact du sexe sur les paramètres hématologiques, de la variabilité a été observée selon la race, l'âge des animaux, le stade physiologique, l'alimentation, les performances des animaux, la conduite d'élevage et la saison (Elbers *et al.*, 1992). De plus, même si des études se développent pour objectiver par exemple l'anémie des truies (Gautier *et al.*, 2019), il existe peu de validation de l'hémogramme obtenu avec des automates d'analyse hématologique et une variabilité des références apparait pour des stades physiologiques spécifiques, tels que le porcelet autour du sevrage.

L'objectif de cette étude est (i) la validation de l'automate d'analyse biochimique et hématologique courant, le ProCyte Dx (IDDEX®) et (ii) la détermination des valeurs de référence des paramètres hématologiques chez le porcelet en post-sevrage.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Population étudiée

Dans 16 élevages naisseurs-engraisseurs, deux porcelets de poids moyen ont été sélectionnés dans neuf portées provenant de truies de rangs de portée représentant la démographie standard d'un élevage de porc. Au total, des prélèvements sanguins sur 288 porcelets mâles entiers de génétique NUCLEUS ont été réalisés sur tube EDTA deux jours avant le sevrage puis une semaine après, soit à 26 et 35 jours d'âge respectivement.

1.2. Analyses hématologiques et échantillons retenus

Les échantillons ont été analysés le jour même à l'aide du ProCyte Dx. En parallèle, un frottis sanguin (méthode manuelle de-référence) a systématiquement été réalisé et analysé (un micro-hématocrite a été effectué sur les 100 premiers prélèvements pour validation).

Les échantillons ne répondant pas aux critères d'inclusion (absence d'identification, absence de données du ProCyteDx et/ou absence de frottis) et ceux pour lesquels les conditions

pré-analytiques n'étaient pas remplies (hémolyse marquée, caillot sanguin, cytolysé marquée) ont été exclus de l'analyse. Au total, 561 échantillons ont été retenus parmi les 576 prélèvements sanguins effectués.

1.3. Analyses descriptive et comparative des résultats

Les données obtenues par l'automate pour la lignée érythrocytaire, leucocytaire et thrombocytaire ont été décrites et comparées au frottis sanguin. Pour les données quantitatives continues, la concordance entre les deux méthodes a été évaluée par le calcul du coefficient de concordance de Lin et complétée par des graphiques de Bland Altman et le calcul de la droite de régression. Pour les données qualitatives, le coefficient de kappa, les taux de concordance et de discordance, la spécificité, la sensibilité, les valeurs prédictives positives et négatives ont été calculés. Quand la variabilité des valeurs d'une variable quantitative était très faible et/ou quand les valeurs étaient des valeurs entières, elles ont été regroupées en classe et considérées comme des valeurs qualitatives pour l'évaluation de la concordance entre les deux méthodes. La concordance entre les deux méthodes.

1.4. Etablissement de valeurs de référence

Ces données ont ensuite été analysées à l'aide du logiciel Reference Value Advisor v2.1 pour obtenir des valeurs dites de référence à ce stade physiologique. Ce logiciel, basé sur les recommandations internationales permet, à partir d'une sélection de valeurs pour un paramètre donné, d'établir une description des données (taille de l'échantillon, médiane, moyenne, écart-type), de représenter la distribution sous forme d'histogramme, de repérer les éventuelles valeurs aberrantes et de les mettre en évidence par des tests, de tester la distribution (normale, symétrique) et enfin de choisir la méthode statistique la plus adaptée pour l'établissement d'intervalles de référence (Geffré et al, 2011).

2. RESULTATS - DISCUSSION

2.1. Validation de l'automate d'hématologie ProCyte Dx

Le ProCyte Dx est validé pour la lignée érythrocytaire et pour la numération leucocytaire différentielle en cinq populations (monocytes, lymphocytes, granulocytes neutrophiles, basophiles et éosinophiles). Néanmoins, la lecture du frottis sanguin reste nécessaire pour confirmer les anomalies morphologiques (détectées par l'analyse des graphiques de distribution cellulaire rendus par l'automate) et la numération plaquettaire (agrégats plaquettaires très peu détectés par l'automate).

2.2. Etablissement de valeurs de référence

2.2.1. Valeurs communes à 26 et 35 jours d'âge

Les deux groupes d'âge n'ont pas été distingués pour la numération des hématies (intervalles de références entre 5,4 et

7,9 $10^{12}/L$), pour le taux d'hématocrite (entre 28,1 et 45,7%) et pour l'hémoglobémie (entre 85,1 et 136,0 g/L).

Pour la numération plaquettaire, les valeurs de référence varient entre 246,3 et 966,5 $10^3/\mu L$ pour les deux classes d'âge.

2.2.2. Valeurs distinctes à 26 et 35 jours d'âge

Les groupes d'âges ont été distingués pour les paramètres suivants donnant lieu à des intervalles différents.

Lignée érythrocytaire :

Les valeurs de référence varient pour le volume glomérulaire moyen (VGM) entre 47,8 et 70,0 fL à 26 jours puis entre 47,0 et 66,2 fL à 35 jours ; pour la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) entre 14,5 et 20,8 pg à 26 jours puis entre 13,7 et 19,2 pg à 35 jours ; pour la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) entre 27,9 et 31,9% à 26 jours puis entre 26,7 et 31,0% à 35 jours et pour l'indice de distribution des globules rouges (IDR) entre 20,9 et 40,1% à 26 jours puis entre 21,9 et 49,2% à 35 jours

Pour la numération réticulocytaire, les valeurs de référence varient entre 23,3 et 472,6 $10^3/\mu L$ à 26 jours puis entre 8,5 et 231,4 $10^3/\mu L$ à 35 jours et elles varient entre 1,6 et 59,6 % à 26 jours puis entre 4,3 et 95,8 % à 35 jours pour la fraction des réticulocytes immatures.

Lignée leucocytaire :

Pour la numération leucocytaire, les valeurs de référence varient entre 6,6 et 23,5 $10^3/\mu L$ à 26 jours puis entre 8,8 et 32,5 $10^3/\mu L$ à 35 jours. Les groupes d'âges ont aussi été distingués pour les lymphocytes (numération entre 3,2 et 13,4 $10^3/\mu L$ à 26 jours puis entre 4,9 et 16,5 $10^3/\mu L$ à 35 jours), les monocytes (numération entre 0,1 et 1,7 $10^3/\mu L$ à 26 jours puis entre 0,3 et 2,2 $10^3/\mu L$ à 35 jours), les granulocytes neutrophiles (numération d entre 2,2 et 11,8 $10^3/\mu L$ à 26 jours puis entre 2,6 et 19,2 $10^3/\mu L$ à 35 jours), les granulocytes basophiles (numération entre 0,0 et 0,2 $10^3/\mu L$ à 26 jours puis entre 0,0 et 0,4 $10^3/\mu L$ à 35 jours) et les granulocytes éosinophiles (numération entre 0,0 et 0,1 $10^3/\mu L$ à 26 jours, ils restent à 0,0 $10^3/\mu L$ à 35 jours).

Comparativement aux valeurs hématologiques du porc adulte (Thorn, 2010), les résultats obtenus pour le porcelet autour du sevrage soulignent une valeur haute des leucocytes nettement supérieure (32,5 $10^3/\mu L$ contre 22,0 $10^3/\mu L$) et un nombre de réticulocytes très élevé avant le sevrage (jusqu'à 7,4% à 26 jours) qui diminue ensuite au cours du temps (3,4% à 35 jours et 1,0% chez l'adulte).

CONCLUSION

Cette étude a permis de valider l'utilisation de l'automate ProCyte Dx (IDDEX®) pour déterminer les paramètres hématologiques du porcelet autour du sevrage sous réserve de confirmer des anomalies morphologiques détectées par le ProCyte Dx par un frottis.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Elbers A.R.W., Counotte G.H.M., Tielen M.J.M., 1992. Haematological and clinicochemical blood profiles in slaughter pigs. Vet. Q, 14, 57-62.
- Gautier L., Cantaloube E., Larher F., Gin T., Friocourt G., Launay F., 2019. Etude de la prévalence de l'anémie chez la truie et proposition d'une méthode d'évaluation du niveau d'anémie d'un troupeau. AFMVP 2019.
- Geffré A., Friedrichs K., Harr K., Concordet D., Trumel C. Braun J.P., 2011. Reference Value Advisor: A new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with microsoft excel. Vet. Clin. Pathol., 40, 107-112.
- Thorn E.C., 2010. Chapter 109: Hematology of the pig. In: Schalm's Veterinary Hematology, 6th edition. Wiley-Blackwell, 1206p.