

Frottis sanguin : réalisation et examen systématique

**Hématologie
du chien et du chat**

par **Nicolas
Pouletty**



VETODIAG
6 Route du Robillard
14170 Berville
02 31 41 00 00
contact@vetodiag.fr
www.vetodiag.fr

Le frottis sanguin est de réalisation simple et rapide. L'évaluation des différentes cellules doit être systématisée pour recueillir un maximum d'informations de la lecture.

En pratique, il n'est pas toujours possible d'avoir accès rapidement à des résultats d'analyse hématologiques. Dans de nombreux cas, la lecture du frottis sanguin apporte de précieuses informations dans de courts délais. Elle peut aussi fournir certains éléments qui n'apparaissent pas dans les résultats d'analyse hématologiques (par exemple, des modifications de forme des érythrocytes, la présence d'une déviation vers la gauche de la formule d'Arneth [signe de neutrophiles immatures] ou de parasites sanguins). Elle est parfois directement diagnostique.

Préparation et coloration du frottis sanguin

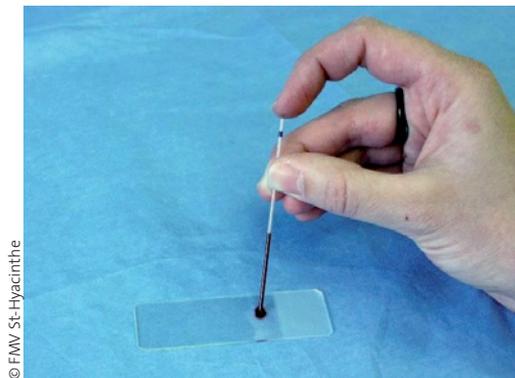
Après prélèvement, idéalement chez un animal calme et sur une veine de taille moyenne à large, le sang doit être rapidement transféré dans un tube contenant un anticoagulant. En général, cet anticoagulant est l'EDTA (acide éthylène diamine tétra-

acétique), car il permet une bonne préservation des cellules à observer. Le frottis doit cependant être réalisé dans les plus brefs délais, à partir d'un échantillon sanguin frais et bien homogénéisé, pour prévenir toute dégradation morphologique des cellules [2, 4].

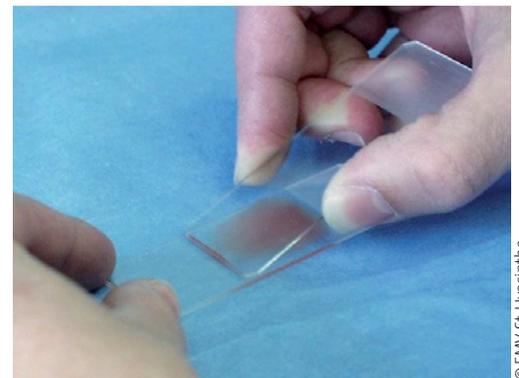
La préparation du frottis commence par le dépôt d'une goutte de sang (au moyen d'un tube capillaire) à l'extrémité de la lame. Cette goutte est ensuite étalée au moyen d'une seconde lame qui est glissée sur la première (photos 1a et 1b). Bien préparé, le frottis sanguin prend l'apparence d'une "langue de chat". Cela indique que l'échantillon a été étalé correctement et permet l'observation d'un frottis sanguin de qualité (figure). La coloration se réalise de façon standard (Diff-Quick®, RAL®, Wright-Giemsa). Le frottis préparé doit être sec (séchage rapide à l'air par agitation des lames) avant coloration pour éviter la formation d'une zone claire non colorée au centre des érythrocytes, ce qui pourrait être faussement interprété comme une hypochromie (photo 2) [4]. D'autres artefacts de coloration peuvent survenir. Par exemple, le colorant de Wright précipite lorsqu'il n'a pas été renouvelé depuis un certain temps, ou que la lame

RÉSUMÉ

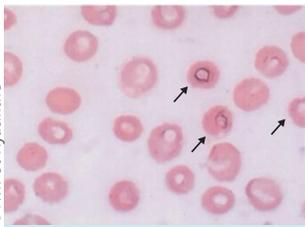
Le frottis sanguin est un outil diagnostique simple, rapide à mettre en œuvre et très utile dans la pratique quotidienne. Une technique de préparation adéquate, ainsi qu'un examen attentif et systématique sont requis afin de recueillir un maximum d'informations. L'évaluation des plaquettes, des érythrocytes et des leucocytes est une étape primordiale de la démarche diagnostique de nombreuses affections, et complémentaire de la numération et de la formule sanguines. Dans certains cas, elle permet d'établir directement le diagnostic et de préciser le pronostic.



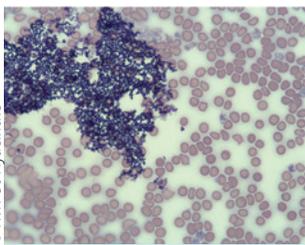
1a Préparation du frottis sanguin. Une petite goutte de sang est placée à l'extrémité d'une lame au moyen d'un microcapillaire.



1b Préparation du frottis sanguin. La goutte est ensuite étalée en plaçant une seconde lame à un angle d'environ 45° par rapport à la première.



2 Lecture d'un frottis sanguin de chien au microscope (× 1 000). Certains globules rouges apparaissent avec un centre pâle et réfringent (flèches). Cet artefact est dû à un mauvais séchage de la lame avant la coloration.

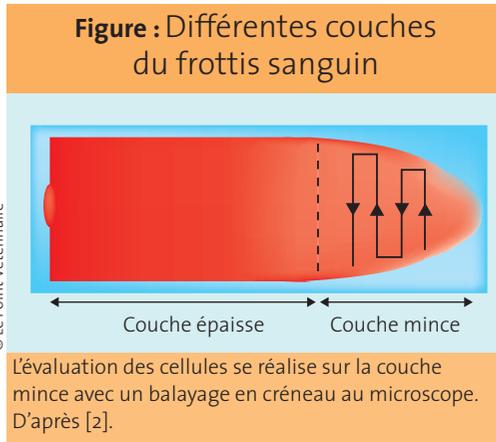


3 Lecture d'un frottis sanguin de chien au microscope (× 500). Artefacts de coloration pouvant être confondus avec des parasites ou des bactéries.

(1) Voir les articles "Le frottis sanguin : évaluation des érythrocytes" et "Le frottis sanguin : évaluation des leucocytes et des thrombocytes" du même auteur, dans ce numéro.

POINTS FORTS

- Après prélèvement, le sang doit être rapidement placé dans un tube avec un anticoagulant pour préserver la qualité des cellules.
- La coloration au nouveau bleu de méthylène permet la mise en évidence spécifique des réticulocytes.
- L'évaluation des cellules se réalise sur la couche mince du frottis avec une lecture au microscope en créneau.
- L'examen systématique du frottis peut être repris sous le sigle "APEL".

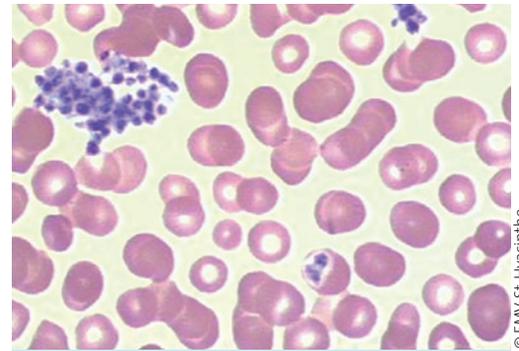


a été trempée trop longtemps dans le colorant ou qu'elle n'a pas été bien rincée après la coloration (photo 3) [4]. Ainsi, le dépôt de colorant peut être interprété, par un œil peu expérimenté, comme étant des bactéries ou des parasites sanguins. De plus, la coloration des frottis et la morphologie cellulaire peuvent être altérées lorsque les lames sont mises en contact avec des vapeurs de formol. En général, le frottis sanguin est coloré avec une préparation de type Romanowsky (Wright® ou Wright-Giemsa®), à base d'éosine et de bleu de méthylène.

Les colorations classiques se distinguent des colorations rapides. Ces dernières, comme le Diff-Quick®, ont l'avantage d'être résistantes aux variations de pH des solutions, au temps de coloration et à la formation de dépôts de colorant. Cependant, elles peuvent être moins efficaces dans la mise en évidence des polychromatophiles, et colorent mal les granules de basophiles et de mastocytes [2, 4]. Pour mettre spécifiquement en évidence les réticulocytes, une coloration au nouveau bleu de méthylène (NBM) doit être réalisée. Dans un tube en plastique, une goutte de sang est mélangée à une ou deux gouttes de NBM. Le tube est laissé à température ambiante pendant 10 minutes. Une petite goutte du mélange est ensuite déposée sur une lame et étalée de la même façon que pour la réalisation du frottis sanguin. La lame est séchée rapidement à l'air et examinée au fort grossissement du microscope (× 50 à 100) [1, 2, 4].

Examen systématique du frottis sanguin

Lors de l'évaluation d'un frottis sanguin, il est important de procéder de façon systématique. Le frottis sanguin est composé d'une couche mince (monocellulaire) à l'extrémité arrondie, suivie progressivement d'une couche épaisse vers la base du frottis. L'évaluation des cellules sanguines est réalisée sur la couche mince, car la couche épaisse



4 Lecture d'un frottis sanguin au microscope (× 1 000) chez un chien sain. Amas de plaquettes.

apporte peu d'informations. Au faible grossissement du microscope (× 10 ou × 20), les bords du frottis et, surtout, son extrémité arrondie peuvent être examinés pour la présence éventuelle d'agrégats plaquettaires ou de larges cellules atypiques (comme des lymphoblastes ou des cellules dendritiques) (photo 4). Les agrégats plaquettaires se forment *in vitro* après activation des plaquettes. Ce phénomène se produit parfois après une prise de sang difficile, par exemple, et plus souvent chez le chat [1, 3, 4].

La couche mince peut être balayée en créneau afin d'observer de façon minutieuse les différentes cellules sanguines dont l'examen ordonné peut être repris sous le sigle "APEL" (A = autres [cellules atypiques, parasites sanguins par exemple] ; P = plaquettes ; E = érythrocytes ; L = leucocytes)⁽¹⁾.

L'examen du frottis sanguin est très utile puisqu'il permet le plus souvent un diagnostic rapide de plusieurs affections fréquentes chez le chien et le chat. Une préparation rigoureuse, ainsi qu'un examen systématique et ordonné du frottis sanguin sont primordiaux pour une utilisation efficace de cet outil diagnostique. ■

Références

- 1 - Duane Lassen E, Weiser G. In: Thrall MA. Veterinary hematology and clinical chemistry. Ed. Blackwell, Ames. 2006:3-37.
- 2 - Harvey JW. Atlas of veterinary hematology: Blood and bone marrow of domestic animals. Ed. WB Saunders. 2001:228p.
- 3 - Stockham SL, Scott MA. Fundamentals of veterinary clinical pathology. 2nd ed. Ed. Blackwell Publishing. 2008:908p.
- 4 - Walker D. Peripheral blood smears. In: Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH. Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. 3rd ed. Ed. Mosby, St Louis. 2008:390-421.