



HAL
open science

Preliminary description of clinico-pathological data associated with the detection of blue-green inclusions also known as ‘green granules of death’ in the blood smear of dogs and cats

Gabriel Speziale

► **To cite this version:**

Gabriel Speziale. Preliminary description of clinico-pathological data associated with the detection of blue-green inclusions also known as ‘green granules of death’ in the blood smear of dogs and cats. Veterinary medicine and animal Health. 2024. dumas-04846525

HAL Id: dumas-04846525

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04846525v1>

Submitted on 18 Dec 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L’archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d’enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

DESCRIPTION PRÉLIMINAIRE DES DONNÉES CLINICO-PATHOLOGIQUES ASSOCIÉES À L'OBSERVATION D'INCLUSIONS BLEU-VERT DE TYPE « GREEN GRANULES OF DEATH » SUR LE FROTTIS SANGUIN DE CHIEN ET DE CHAT

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

SPEZIALE Gabriel, Bastien, Mickaël, Cyril

Directrice de thèse : Mme Fanny GRANAT

JURY

PRESIDENTE :

Mme Nathalie BOURGES-ABELLA

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSEESSEURES :

Mme Fanny GRANAT

Mme Catherine TRUMEL

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

M. Alexandre BERTIN

Assistant hospitalier à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie-Thérapeutique*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
M. **COMBARROS Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
M. **FERCHIOU Ahmed**, *Economie et gestion des entreprises vétérinaires agricoles*
M. **FUSADE-BOYER Maxime**, *Microbiologie et infectiologie*
M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, anatomie pathologique*
Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LE GRAVERAND Quentin**, *Alimentation animale*
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
M. **OTAVIANO DO REGO Renato**, *Chirurgie*
Mme **PIERRON Alix**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
M. **DELPONT Mattias**, *Clinique Aviaire*
Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
Mme **LAYSSOL-LAMOUR Catherine**, *Imagerie Médicale*
Mme **POUJADE Agnès**, *Anatomie pathologique Vétérinaire*
Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
M. **RAMON PORTUGAL Felipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*
Mme **SAADA Chloé**, *Gestion intégrée de la santé des ruminants*

Remerciements

A Madame la Professeure Nathalie BOURGES-ABELLA

Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Histologie, anatomie pathologique

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.
Hommages respectueux.

A Madame la Docteure Fanny GRANAT

Maîtresse de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Biologie médicale animale et comparée

Pour m'avoir confié ce sujet de thèse et m'avoir guidé tout au long de ce travail.
Mes sincères remerciements.

A Madame la Professeure Catherine TRUMEL

Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Biologie médicale animale et comparée

Pour avoir contribué à l'élaboration de cette thèse et pour m'avoir fait l'honneur de
prendre part au jury de cette thèse.
Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Alexandre BERTIN

Assistant hospitalier de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Biologie médicale animale et comparée

Pour son implication et son aide tout au long de cette étude mais aussi pour sa
présence ce jour.
Sincère reconnaissance.

Table des matières

Liste des annexes	8
Liste des figures	10
Liste des tableaux	13
Liste des graphiques	15
Liste des abréviations	17
Introduction	18
PARTIE 1 : Etude bibliographique	20
I - Données bibliographiques disponibles en médecine humaine	20
1. Définition et première description.....	20
2. Caractéristiques des inclusions bleu-vert de type GGD.....	22
2.1. Hypothèse sur leur nature et composition.....	22
2.2. Détection microscopique à partir du frottis sanguin.....	25
2.3. Mise en évidence par des colorations spécifiques.....	32
2.4. Microscopie électronique à transmission.....	37
2.5. Caractéristiques fluorescentes.....	38
2.6. Mortalité et affections associées.....	40
2.7. Description des variables hématologiques et biochimiques associées.....	44
II - Données bibliographiques disponibles en médecine vétérinaire	56
1. Description de la méthodologie de l'étude.....	56
2. Caractérisation des inclusions de type GGD.....	56
2.1. Microscopie optique.....	56
2.2. Colorations spécifiques.....	57
2.3. Autofluorescence.....	58
3. Description des données clinico-pathologiques et diagnostiques.....	59
3.1. Variables hématologiques et biochimiques.....	59
3.2. Données diagnostiques et issues cliniques.....	60
4. Limites et ouverture.....	61
PARTIE 2 : Etude rétrospective et prospective	63
I - Matériel et méthodes	63
1. Acquisition des données à partir des logiciels Clovis et Sirius.....	63
2. Définition de la population d'étude.....	63
2.1. Sélection des cas rétrospectifs.....	63
2.1.1. Critères d'exclusion.....	64
2.1.2. Critères d'inclusion.....	64

2.2.	Sélection des cas prospectifs.....	68
2.2.1.	Critères d'inclusion	68
3.	Données étudiées.....	68
3.1.	Informations concernant l'animal	68
3.1.1.	Anamnèse et commémoratifs.....	68
3.1.2.	Présentation clinique de l'animal, diagnostic et issue clinique.....	69
3.2.	Réalisation des examens de laboratoire	70
3.2.1.	Protocole de réalisation d'un hémogramme et d'un frottis sanguin	70
3.2.1.1.	Réalisation au laboratoire central du CHUVAC.....	70
3.2.1.2.	Réalisation au laboratoire des urgences du CHUVAC	71
3.2.2.	Traitement des prélèvements des animaux anémiés	71
3.2.3.	Lecture du frottis sanguin	72
3.2.4.	Données hématologiques.....	72
3.2.5.	Données issues des autres examens de laboratoire.....	74
3.2.5.1.	Choix de données	74
3.2.5.2.	Biochimie sanguine.....	75
3.2.5.3.	Ionogramme, lactatémie et gaz sanguins.....	76
3.2.5.4.	Bilan de coagulation.....	77
3.2.5.5.	Synthèse des données biochimiques.....	77
3.3.	Données supplémentaires	77
II - Résultats	78
1.	Description de la population d'étude.....	78
1.1.	Population féline	78
1.2.	Population canine	78
2.	Présentation clinique à l'admission et antécédents	79
3.	Diagnostics ou conditions associées	79
4.	Résultats des examens de laboratoire	80
4.1.	Microscopie optique	80
4.2.	Données hématologiques	81
4.2.1.	Population féline	81
4.2.2.	Population canine.....	83
4.3.	Données biochimiques.....	85
4.3.1.	Population féline	85
4.3.2.	Population canine.....	88
4.4.	Variable d'hémostase.....	90

4.4.1.	Population féline	90
4.4.2.	Population canine	91
5.	Autres résultats	91
6.	Issues cliniques	92
6.1.	Population féline	92
6.1.1.	Mortalité globale et après détection des GGD	92
6.1.2.	Mortalité et variables biochimiques d'intérêt	93
6.1.2.1.	ALAT	93
6.1.2.2.	ASAT	94
6.1.2.3.	Bilirubine totale	95
6.1.2.4.	Lactates	96
6.2.	Population canine	97
6.2.1.	Mortalité globale et après détection des GGD	97
6.2.2.	Mortalité et variables biochimiques d'intérêt	97
6.2.2.1.	ALAT	98
6.2.2.2.	PAL	99
6.2.2.3.	Lactates	100
III - Discussion	101
Conclusion	108
Bibliographie	110
Annexes	115

Liste des annexes

Annexe 1 : Informations concernant le signalement et les données cliniques des chats de l'étude.....	116
Annexe 2 : Informations concernant le signalement et les données cliniques des chiens de l'étude.....	118
Annexe 3 : Variables hématologiques obtenues par les automates d'hématologie pour 17 chats (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Sysmex XN-1000V®, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Procyte Dx®).....	120
Annexe 4 : Variables hématologiques obtenues par les automates d'hématologie pour 14 chiens (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Sysmex XN-1000V®, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Procyte Dx®).....	121
Annexe 5 : Données issues de l'analyse morphologique du frottis sanguin des chats de l'étude.....	122
Annexe 6 : Données issues de l'analyse morphologique du frottis sanguin des chiens de l'étude.....	125
Annexe 7 : Tableau de variables biochimiques mesurées pour 17 chats (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Vitros XT3400® sauf mention contraire, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Catalyst One®).....	127
Annexe 8 : Tableau de variables biochimiques mesurées pour 14 chiens (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Vitros XT3400® sauf mention contraire, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Catalyst One®).....	128
Annexe 9 : Tableau récapitulatif des bilans électrolytiques, de la lactatémie et de la gazométrie sanguine pour les 17 chats de l'étude (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées avec le Vitros XT3400® sauf mention contraire, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées avec le Stat Profile Prime®VET sauf mention contraire).....	129
Annexe 10 : Tableau récapitulatif des bilans électrolytiques, de la lactatémie et de la gazométrie sanguine pour les 14 chiens de l'étude (identifiant non souligné : toutes les	

valeurs ont été mesurées avec le Vitros XT3400® sauf mention contraire, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées avec le Stat Profile Prime®VET). ... 130

Annexe 11 : Tableau de données des profils de coagulation des chats de l'étude (réalisés par le STA Compact Max 3®)..... 131

Annexe 12 : Tableau de données des profils de coagulation des chiens de l'étude (identifiant non souligné : profil de coagulation réalisé par le STA Compact Max 3®, identifiant souligné : profil de coagulation réalisé par le Coag Dx®)..... 131

Liste des figures

Figure 1 : Première observation d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » au microscope optique, dans deux neutrophiles sur un frottis sanguin de patient humain coloré au Wright (cas n°1 de l'étude) (Harris et al. 2009).....	21
Figure 2 : Inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » détectées dans un frottis de sang périphérique humain coloré au Wright-Giemsa et observées au grossissement x1000 (à gauche dans un neutrophile et à droite dans un monocyte) (Hodgson et al. 2015).....	28
Figure 3 : Modifications dynamiques de l'aspect morphologique d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » chez le premier patient (Chen et al. 2024).	31
Figure 4 : Modifications dynamiques de l'aspect morphologique d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » chez le deuxième patient (Chen et al. 2024)...	31
Figure 5 : Multiples inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » dans des cellules de sang périphérique humain observées au microscope optique (grossissement x1000) (Hodgson et al. 2015).....	34
Figure 6 : Observation d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur des frottis de sang humain en microscopie optique (grossissement x1000) (Patel et al. 2017).	34
Figure 7 : Inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » acido-alcool résistants observées dans un neutrophile de sang humain avec une coloration de Ziehl-Neelsen au microscope optique (grossissement x100) (Courville et al. 2017). 35	
Figure 8 : Observation en microscopie optique d'un neutrophile de sang humain coloré à l'hématoxyline et à l'éosine montrant des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » de couleur jaune-brun, désignées par les deux flèches (Patel et al. 2017).	35
Figure 9 : Images d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » dans des neutrophiles de sang humain observées en microscopie électronique à transmission (Hodgson et al. 2015).....	37
Figure 10 : Images issues d'examen de microscopie électronique à transmission réalisés sur des leucocytes de sang humain, montrant des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » densément osmiophiles en périphérie avec un matériel homogène et clair compatible avec des lipides (Patel et al. 2017).	38

Figure 11 : Observations obtenues par microscopie à fluorescence réalisées avec le colorant BODIPY (apparaît en vert fluo) sur des cellules provenant d'un spécimen témoin (g et h à gauche) et sur des cellules provenant du patient sélectionné présentant des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » (g et h à droite) (Patel et al. 2017).	39
Figure 12 : Inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » dans des neutrophiles (A, B, E, F) et des monocytes (C, D, G, H) sur des frottis sanguins de chiens (Sebastian et al. 2024).	57
Figure 13 : Coloration au bleu de Prusse négative d'inclusions « <i>lipofuscin-like</i> » dans des neutrophiles canins (Sebastian et al. 2024).	58
Figure 14 : Autofluorescence à large spectre en faveur de lipofuscine. Toutes les cellules d'une rangée sont les mêmes (Sebastian et al. 2024).	59
Figure 15 : Résultats d'autofluorescence de lipofuscine contenue dans des hépatocytes de chat.	65
Figure 16 : Résultats d'autofluorescence de lipofuscine contenue dans des hépatocytes de chien.	65
Figure 17 : Aspect de l'hémosidérine (flèches noires) sur des préparations cytologiques colorées au MGG de rate (A) et d'épanchement péricardique (B) de chien et sur un frottis sanguin de chien coloré au MGG (C).	66
Figure 18 : Résultats d'autofluorescence négatifs sur une préparation cytologique de rate de chien contenant de l'hémosidérine.	66
Figure 19 : Résultats d'autofluorescence d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » observées sur le frottis sanguin d'un chat.	67
Figure 20 : Résultats d'autofluorescence d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » observées sur le frottis sanguin d'un chien.	67
Figure 21 : Inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » dans des neutrophiles (chiens : A, B, C ; chat : D et G) et des monocytes (chiens : E ; chat : F) sur des frottis sanguins, indiqués par les flèches noires.	81
Figure 26 : Résultats d'autofluorescence d'une inclusion de type « <i>green granules of death</i> » dans un monocyte de chat révélant une baisse d'intensité entre 305 nm et 594 nm.	102
Figure 27 : Résultats d'autofluorescence d'une inclusion de type « <i>green granules of death</i> » dans un neutrophile de chien révélant une baisse d'intensité entre 305 nm et 594 nm.	102

Figure 28 : Résultats d'autofluorescence d'une inclusion de type « *green granules of death* » dans un neutrophile de chien..... 103

Liste des tableaux

Tableau 1 : Récapitulatif des résultats d'analyse de biopsies hépatiques sur certains patients humains pour lesquels des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » ont été mises en évidence sur le frottis sanguin et interprétation quant à leur possible nature.	23
Tableau 2 : Etat des lieux sur la description morphologique et la répartition cellulaire des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » observées sur le frottis sanguin dans les 25 études disponibles en médecine humaine.	27
Tableau 3 : Etat des lieux sur les résultats des colorations spécifiques qui ont été utilisées pour caractériser les inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » en médecine humaine.	33
Tableau 4 : Données sur la mortalité des différentes études rapportant la détection d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin en médecine humaine.	42
Tableau 5 : Présentation des résultats de biochimie plasmatique et hémostase à partir des diverses études rapportant la détection d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin en médecine humaine.	47
Tableau 6 : Mortalité selon l'activité des transaminases (augmentée ou normale) et la valeur de lactatémie (inférieure ou supérieure à 5 mmol/L).	51
Tableau 7 : Critères retenus pour définir un SRIS chez le chat et chez le chien (Textbook of Veterinary Internal Medicine, 2024).	69
Tableau 8 : Variation des principales variables hématologiques chez 17 chats présentant des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin.	82
Tableau 9 : Variation des principales variables hématologiques chez 14 chiens présentant des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin.	84
Tableau 10 : Variation des principales variables biochimiques chez 17 chats présentant des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin. .	87
Tableau 11 : Variation des principales variables biochimiques chez 14 chiens présentant des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin.	89

Tableau 12 : Variation des données du bilan d'hémostase chez 2 chats présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin..... 90

Tableau 13 : Variation des données du bilan d'hémostase chez 7 chiens présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin.. 91

Liste des graphiques

Graphique 1 : Cinétique de la mesure de l'activité plasmatique des ALAT chez 20 patients pour lesquels des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » ont été détectées sur le frottis sanguin (Hodgson et al. 2015).....	52
Graphique 2 : Cinétique de l'activité plasmatique des ALAT (graphique de gauche) et d'ASAT (graphique de droite) chez 25 patients pour lesquels des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » ont été détectées sur le frottis sanguin (Patel et al. 2017).....	53
Graphique 3 : Cinétique de la mesure de l'activité plasmatique des ALAT (en rouge) et des ASAT (en bleu) chez 6 patients pour lesquels des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » ont été détectées sur le frottis sanguin (Cantu et al. 2020).	53
Graphique 4 : Valeurs de lactatémie artérielle en fonction du pH artériel chez 14 patients avant ou au moment de la détection d'inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin (Hodgson et al. 2015).....	54
Graphique 5 : Cinétique de la lactatémie chez 6 patients présentant des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin (Cantu et al. 2020).	55
Graphique 6 : Activité des ALAT en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin pour 15 chats.....	93
Graphique 7 : Activité des ASAT en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin pour 7 chats.....	94
Graphique 8 : Bilirubinémie totale en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin pour 15 chats.....	95
Graphique 9 : Lactatémie en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin pour 12 chats...	96
Graphique 10 : Activité des ALAT en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « <i>green granules of death</i> » sur le frottis sanguin pour 12 chiens.....	98

Graphique 11 : Activité des PAL en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin pour 12 chiens. 99

Graphique 12 : Lactatémie en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin pour 8 chiens. 100

Liste des abréviations

ALAT : Alanine Aminotransférase

ASAT : Aspartate Aminotransférase

ATIII : Antithrombine III

CHUVAC : Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire des Animaux de Compagnie

CK : Créatine-Kinase

CRP : Protéine C-Réactive

ECVCP : *European College of Veterinary Clinical Pathology*

ECVECC : *European College of Veterinary Emergency and Critical Care*

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétracétique

ENVT : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

GGD : *Green Granules of Death*

GGT : Gamma-Glutamyl Transférase

IR : Intervalle de Référence

MET : Microscopie Electronique à Transmission

ORO : *Oil Red O*

PAL : Phosphatase Alcaline

PAS : *Periodic Acid Schiff*

PDF : Produits de Dégradation de la Fibrine

SAA : Protéine Sérique Amyloïde A

SRIS : Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique

TCA : Temps de Céphaline Activé

TQ : Temps de Quick

Introduction

Des inclusions bleu-vert, aussi connues sous le nom de « *green granules of death* » ont été observées dans des neutrophiles et des monocytes sur les frottis sanguins de patients humains. Plus récemment, ce même type d'inclusions a été observé sur des frottis de chiens.

En médecine humaine, l'observation de telles inclusions est fréquemment associée à des affections graves et à un pronostic sombre. La première observation de ces inclusions sur des frottis sanguins était associée à des lésions hépatiques. Depuis, l'éventail des affections que présentent les patients dont le frottis sanguin contient des inclusions bleu-vert s'est considérablement élargi. Cependant, des lésions hépatiques sont quasiment toujours mises en évidence.

L'étude de ces inclusions est récente (environ 15 ans) et les connaissances à leur sujet restent limitées aujourd'hui. Elles sont microscopiquement proches de la lipofuscine, un pigment classiquement présent dans les hépatocytes. Leur composition riche en lipides semble étayer cette hypothèse. Leur présence sur un frottis sanguin pourrait s'expliquer de la façon suivante : lors d'une lésion hépatocellulaire, les hépatocytes endommagés relargueraient de la lipofuscine dans le sang, et celle-ci ou l'un de ces produits de dégradation seraient par la suite phagocytés par des neutrophiles et ainsi potentiellement détectés sur un frottis sanguin (Hodgson et al. 2015).

En médecine vétérinaire, une seule étude connue a évalué les caractéristiques morphologiques d'inclusions bleu-vert observées sur des frottis de chiens (Sebastian et al. 2024). Ces derniers, pour lesquels les données clinico-pathologiques ont été recueillies de manière rétrospective et prospective, présentaient tous des lésions hépatiques. Les cas étudiés sont trop peu nombreux pour identifier des affections pour lesquelles les inclusions bleu-vert ont davantage tendance à apparaître. La caractérisation en microscopie optique et à l'autofluorescence de ces inclusions bleu-vert serait en faveur de lipofuscine. Les mécanismes pathogéniques à leur origine n'ont pas été prouvés. Même si certains chiens sont décédés peu de temps après la détection de ces inclusions, leur présence n'est pas forcément annonciatrice de décès (Sebastian et al. 2024). Enfin, aucune donnée n'a encore été décrite chez le chat.

L'implication pronostique de ces inclusions fait donc toujours débat car, même si la mortalité est élevée en leur présence, aucune étude n'a pu prouver une réelle corrélation.

Dans un premier temps, nous ferons un état de l'art des connaissances au sujet de telles inclusions en médecine humaine et vétérinaire. Dans un second temps, nous détaillerons l'étude que nous avons menée, celle-ci visant à décrire le plus précisément possible les données clinico-pathologiques associées à l'observation d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin de chiens et de chats.

PARTIE 1 : Etude bibliographique

I - Données bibliographiques disponibles en médecine humaine

1. Définition et première description

La première description clairement rapportée des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » (GGD) provient d'une étude publiée en 2009 dans laquelle deux cas d'insuffisance hépatique aiguë ont été répertoriés. Une coloration de Wright sur les frottis sanguins réalisés à cette occasion a permis d'identifier, dans une minorité de neutrophiles, des inclusions aux bords mal définis, ayant une apparence en « bloc », parfois associées à de nombreuses vacuoles cytoplasmiques et à des signes de toxicité des neutrophiles (voir Figure 1). La dénomination « *green neutrophilic inclusions* » a ainsi été proposée par les auteurs de cette étude. Etant donné que ces inclusions ont été observées dans deux cas d'insuffisance hépatique aiguë, les auteurs ont émis l'hypothèse qu'elles pouvaient être le reflet d'un dysfonctionnement du système hépatobiliaire. Cependant, une coloration de Hall pour la bilirubine a été négative dans cette étude. La nature précise de ces inclusions restait alors indéterminée. En revanche, c'est la première fois qu'une relation entre la détection de ces inclusions sur un frottis sanguin et un mauvais pronostic à court terme a été évoquée puisque les deux patients sont morts dans les 24 heures suivant leur observation (Harris et al. 2009).

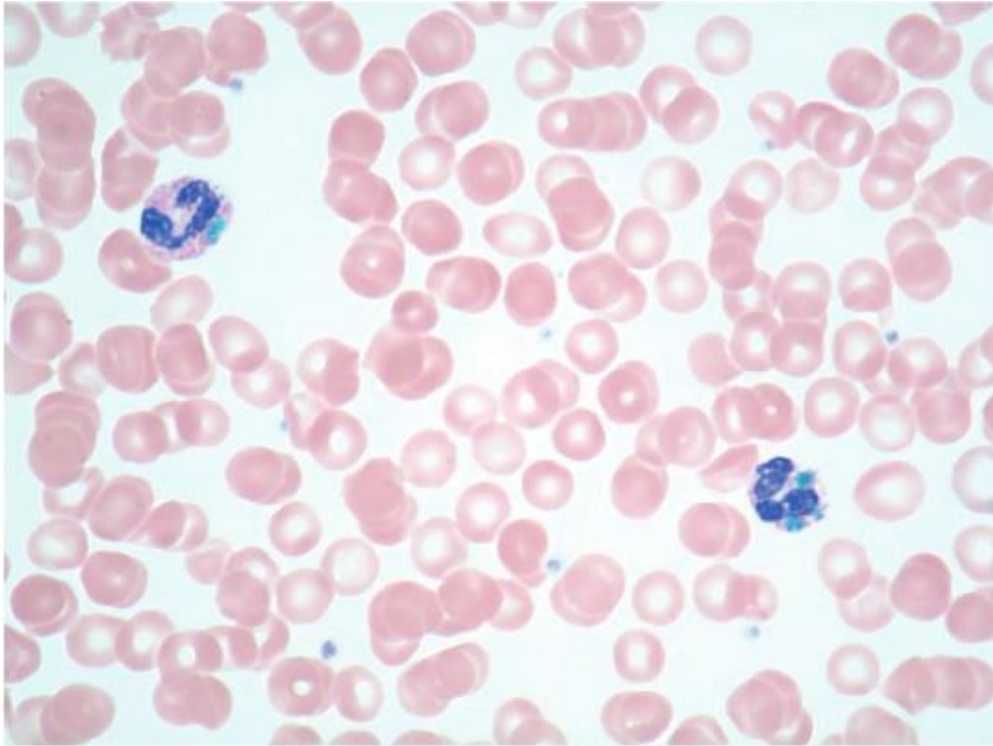


Figure 1 : Première observation d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » au microscope optique, dans deux neutrophiles sur un frottis sanguin de patient humain coloré au Wright (cas n°1 de l'étude) (Harris et al. 2009).

Depuis 2009, un certain nombre de rapports de cas décrivant des inclusions similaires sont parus étant donnée l'importance croissante apportée à leur détection, de par leur probable corrélation avec un mauvais pronostic à court terme. A travers ces études, différentes appellations sont prêtées à ces découvertes du frottis sanguin : « death cells », « blue-green inclusions », « green inclusions », « bright green inclusions », « green granules », « critical green inclusions », « crystals of death », « *green granules of death* ». C'est cette dernière dénomination qui est la plus répandue et que nous retiendrons donc dans notre étude.

2. Caractéristiques des inclusions bleu-vert de type GGD

2.1. Hypothèse sur leur nature et composition

La véritable nature de ces inclusions et leurs constituants sont encore mal connus.

Le premier article qui les étudie suppose qu'il pourrait s'agir de produits biliaires véhiculés par le sang (dans un contexte de cholestase et d'insuffisance hépatique aiguë), notamment en raison de la couleur verte pouvant rappeler celle de la biliverdine. Comme mentionné précédemment (paragraphe « 1. »), une coloration de Hall a toutefois montré un résultat négatif, ce qui ne permettait pas de confirmer une composition similaire ou se rapprochant de la bilirubine ou biliverdine d'après cette étude (Harris et al. 2009).

A partir de 2015, les articles de la littérature scientifique en médecine humaine se sont globalement accordés sur la probable nature des GGD. Premièrement, ces inclusions semblent avoir un contenu lipidique élevé et ne correspondent pas à de la biliverdine (Hodgson et al. 2015). Deuxièmement, des autopsies ont permis de fournir des indices en comparant les préparations histologiques de foie de certains patients avec les inclusions qui avaient été observées sur leur frottis sanguin. Dans les quatre études ayant réalisé ces préparations histologiques, des lésions hépatiques (nécrose centrolobulaire, stéatose généralisée) ont été observées conjointement avec la présence d'un pigment verdâtre de nature réfringente dans les hépatocytes (coloration Giemsa) évoquant de la lipofuscine. Or, ce pigment observé dans les préparations histologiques de foie avait des caractéristiques morphologiques (taille, apparence) similaires avec les inclusions observées sur les frottis sanguins. Ce constat a permis à Hodgson et al. de suspecter pour la première fois, en 2015, un lien probable entre la lipofuscine et les GGD. Celui-ci a de nouveau été proposé à l'occasion d'autopsies par trois autres études (Haberichter, Crisan 2017; Patel et al. 2017; Cantu et al. 2020). Les résultats des biopsies hépatiques réalisées lors de ces autopsies sont présentés dans le Tableau 1.

Etude (nombre de cas autopsiés)	Lésions observées	Description des pigments intracellulaires en coloration classique	Résultats des colorations spécifiques	Interprétation des colorations	Lien avec les inclusions sur frottis
Hodgson et al. 2015 (2)	Cas 1 : légère congestion sans nécrose Cas 2 : stéatose généralisée avec nécrose centrolobulaire	Giemsa : pigment vert centrolobulaire HE : pigment jaune centrolobulaire	Zeehl-Nielsen : positif PAS : positif Coloration de Fouchet : négatif Coloration de Perls : négatif	Pigment hépatique considéré comme de la lipofuscine	Taille et apparence similaires au Giemsa
Haberichter, Crisan 2017 (2)	Tous les cas : nécrose centrolobulaire étendue	Giemsa : pigment vert brillant et réfringent	PAS-diaïtase : positif	Pigment hépatique considéré comme de la lipofuscine	Pattern de coloration identique au Giemsa
Patel et al. 2017 (3)	Tous les cas : nécrose centrolobulaire étendue	Giemsa : pigment vert dans des cellules de Kupffer et des hépatocytes HE : pigment jaune-brun dans des cellules de Kupffer et des hépatocytes	PAS-diaïtase : variablement positif	Pigment hépatique considéré comme de la lipofuscine	Propriétés de coloration similaires entre les inclusions du frottis colorées en WG et la lipofuscine observée sur les sections de foie post-mortem colorées au Giemsa
Cantu et al. 2020 (3)	Tous les cas : nécrose centrolobulaire	Giemsa : pigment vert et d'aspect granuleux HE : pigment jaune-brun	-	Pigment hépatique considéré comme de la lipofuscine	Propriétés morphologiques similaires entre les inclusions des leucocytes et la lipofuscine colorée au Giemsa

Tableau 1 : Récapitulatif des résultats d'analyse de biopsies hépatiques sur certains patients humains pour lesquels des inclusions bleu-vert de type « green granules of death » ont été mises en évidence sur le frottis sanguin et interprétation quant à leur possible nature.

HE : hématoxyline et éosine, PAS : Periodic Acid Schiff, WG : Wright-Giemsa

Cependant, l'inconstance de certains résultats, notamment lors de colorations spécifiques des frottis sanguins ou lors d'examens d'autofluorescence, ont amené les différents auteurs à reconsidérer ce lien : les inclusions de type GGD pourraient être composées d'une substance dite « *lipofuscin-like* » plutôt que de lipofuscine (Hodgson et al. 2015). Cette substance correspondrait ainsi à un dérivé proche de la lipofuscine, aussi composé d'un matériel organique riche en lipides (Hodgson et al. 2015).

Cette idée permet d'introduire la différence entre la lipofuscine, qui est considérée comme un pigment "d'usure", présent dans le foie, le cœur, les reins, la rétine, les cellules nerveuses et les glandes surrénales et, bien qu'il n'ait pas été universellement défini, le "céroïde" qui est un pigment dérivé de la lipofuscine s'accumulant à la suite de certaines conditions pathologiques (maladies de stockage lysosomal, malnutrition, ...) (Seehafer, Pearce 2006). Il ne pourrait donc pas être exclu que, dans notre cas, la substance « *lipofuscin-like* » puisse correspondre à ce « céroïde » étant donné le contexte d'apparition des GGD (maladies graves, admission en soins intensifs), mais la nature précise de ces inclusions reste incertaine à ce jour car peu de données sont disponibles sur ce point.

La lipofuscine ou ses dérivés ne sont pas connus pour s'accumuler dans les leucocytes. Il reste donc à expliquer comment ce type de pigment peut être observé sur le frottis sanguin (Seehafer, Pearce 2006).

L'hypothèse physiopathogénique à l'origine de la présence de GGD dans les neutrophiles ou les monocytes sur un frottis sanguin en médecine humaine est la suivante : leur détection ferait suite à une lésion hépatique la plupart du temps (hypoxique ou ischémique par exemple) qui entraînerait la libération de lipofuscine par les cellules parenchymateuses hépatiques nécrosées. Les cellules de Kupffer (macrophages hépatiques) et des neutrophiles et monocytes (passant à travers les sinusoides capillaires) présents dans le foie seraient capables de phagocyter cette substance, qui subirait une dégradation lysosomale dans leur cytoplasme, se transformant ainsi en une substance « *lipofuscin-like* » et/ou en dérivés et formant des corps d'inclusion bleu-vert. Les neutrophiles et macrophages phagocytaires rejoindraient ensuite la circulation sanguine (Hodgson et al. 2015; Sebastian et al. 2024). Les inclusions seraient alors détectables dans certains neutrophiles et monocytes sur le frottis sanguin.

2.2. Détection microscopique à partir du frottis sanguin

Le Tableau 2 résume les descriptions morphologiques des inclusions observées au microscope optique pour les 25 études actuellement disponibles en médecine humaine. Notons que ces descriptions sont généralement brèves et peu détaillées.

Etude	Nombre de cas	Description des inclusions	Cellules (nombre de cas)	Fréquence	Méthode de comptage	Coloration utilisée
Harris, Malysz, Smith 2009	2	- vertes - taille considérablement variable - brillantes, aspect "blocky" et bords mal définis	N (2)	Cas 1 : < 10% Cas 2 : minorité	Non explicité	Wright
Jazaerly, Gabali 2014	1	- vertes - taille variable - brillantes et bords mal définis	N (1)	15%	Non explicité	Non explicité
Hodgson et al. 2015	20	- vertes - taille variable et souvent multiples - réfringentes et vibrantes	N (16) M (2) N/M (2)	"Cellules uniques à 1-2% des neutrophiles"	Non explicité	Giemsa modifié Wright Wright-Giemsa modifié
Patel et al. 2017	25	- bleu-vert - de seule et subtile à multiples et proéminentes - réfringentes	N (23) N/M (2)	Non explicité	Non explicité	Wright-Giemsa
Haberichter, Crisan 2017	5	- vertes - brillantes	N (5)	Non explicité	Non explicité	Wright-Giemsa
Courville et al. 2017	13	- bleu-vert - réfractiles et de forme globulaire	N (11) M (1) N/M (1)	N : 2% ou moins sauf 2 cas (21% et 4%) M: 1% et 3%	Non explicité	Wright-Giemsa
Gorup et al. 2018	2	- bleu-vert - larges - irrégulières, grossières, brillantes et rares	Non explicité	Non explicité	Non explicité	Non explicité
Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018	1	- vertes - réfringentes et rares	N (1)	Non explicité	Non explicité	Wright-Giemsa
Hodgkins, Jones 2018	1	- bleu-vert	N/M (1)	Non explicité	Non explicité	Non explicité
Sin et al. 2019	1	- bleu-vert - brillantes	N/M (1)	Non explicité	Non explicité	Wright-Giemsa
Soos et al. 2019	1	- bleu-vert	N (1)	Non explicité	Non explicité	Non explicité
Cantu et al. 2020	6	- de bleu à vert sombre - taille considérablement variable - forme considérablement variable	N (4) M (1) N/M (1)	< 1% sauf 1 cas (5% neutrophiles et 1% monocytes)	Non explicité	Wright-Giemsa
Dienstmann et al. 2020	1	- bleu-vert	N/M (1)	Non explicité	Non explicité	Non explicité

Etude	Nombre de cas	Description des inclusions	Cellules (nombre de cas)	Fréquence	Méthode de comptage	Coloration utilisée
McGinnis, Smith 2020	1	- vertes - réfringentes et grossières	N (1)	Non explicité	Non explicité	Wright-Giemsa
Vicente-Streijn et al. 2020	2	- vertes - brillantes	N (2)	2% (jours 1 et 2) et 14% (jour 0), 18% (jour 1), 8% (jour 2)	Comptage sur 200 neutrophiles	May-Grünwald-Giemsa (CellaVision DM96)
Bowen, Koutsavlis 2020	1	- bleu-vert - seules ou multiples	N (1)	Non explicité	Non explicité	Wright-Giemsa
Merino et al. 2021	9	- vertes - brillantes	N (8) N/M (1)	Entre 1% et 14% des neutrophiles	Comptage sur 200 neutrophiles	May-Grünwald-Giemsa (CellaVision DM96)
Shackelton et al. 2021	1	- vertes	N (1)	< 5%	Non explicité	Non explicité
Martins et al. 2022	7	- bleu-vert	M (5) N/M (2)	<1%	Comptage sur 100 cellules	Non explicité
Rivera et al. 2022	1	- bleu-vert - mal définies et réfringentes	N/M (1)	N : 1-2 % M : < 1%	Non explicité	May-Grünwald-Giemsa
Li et al. 2022	1	- vertes - brillantes	N (1)	1,5% (jour 2) puis 2% (jour 3)	Comptage sur 100 neutrophiles	Wright-Giemsa
Jiang et al. 2023	1	- bleu-vert	N (1)	Non explicité	Non explicité	Wright-Giemsa
Long et al. 2023	1	- vertes - brillantes	N (1)	Non explicité	Non explicité	Wright-Giemsa
Zhang et al. 2023	1	- vertes - brillantes, réfringentes et irrégulières	N (1)	Non explicité	Non explicité	Non explicité
Chen et al. 2024	2	- bleu-vert sombre à claire - parfois larges - rondes	N (2)	Cas 1 : 2% puis 5% Cas 2 : 3% puis 1%	Non explicité	Non explicité

Tableau 2 : Etat des lieux sur la description morphologique et la répartition cellulaire des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » observées sur le frottis sanguin dans les 25 études disponibles en médecine humaine.

N : *neutrophiles*, M : *monocytes*, N/M : *neutrophiles et monocytes*

Pour résumer, les GGD sont des inclusions intracellulaires, de couleur variant du bleu au vert en coloration de routine et pouvant être uniques ou multiples au sein d'une même cellule. Leur taille et leur forme présentent une grande variabilité et leurs bords sont mal définis. Ces caractéristiques morphologiques correspondent, comme mentionné précédemment, à l'apparence de la lipofuscine mise en évidence avec de telles colorations dans des prélèvements tissulaires hépatiques. Ces différentes études ont révélé la présence de GGD dans deux types cellulaires du frottis sanguin : les neutrophiles et les monocytes (voir Figure 2). Les neutrophiles sont cependant davantage concernés par les inclusions que les monocytes. En effet, dans la majorité des cas, les patients présentent des GGD dans les neutrophiles uniquement et une minorité des cas en présente soit dans les monocytes uniquement, soit dans ces deux types cellulaires simultanément (voir Tableau 2).

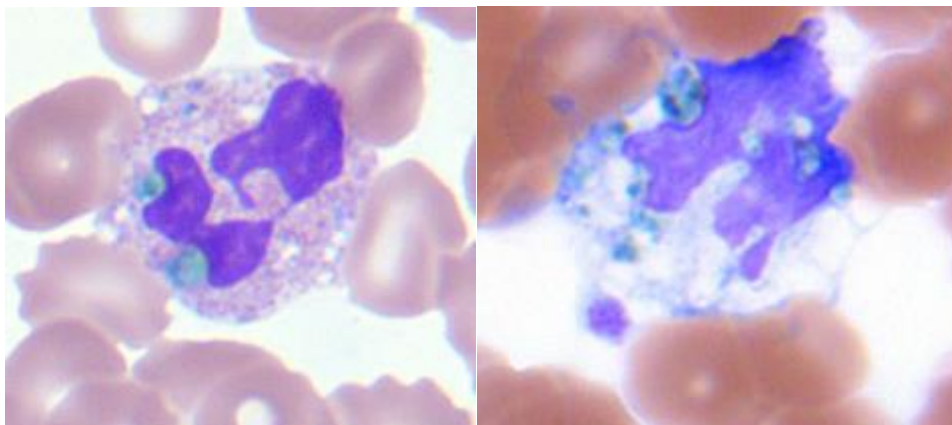


Figure 2 : Inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » détectées dans un frottis de sang périphérique humain coloré au Wright-Giemsa et observées au grossissement x1000 (à gauche dans un neutrophile et à droite dans un monocyte) (Hodgson et al. 2015).

Certaines études ont quantifié les GGD observés sur les frottis sanguins. Pour ce faire, les auteurs ont établi un pourcentage de neutrophiles et/ou de monocytes présentant des inclusions. Le Tableau 2 récapitule les pourcentages qui ont été attribués aux inclusions dans chaque étude et pour chaque type cellulaire concerné. Cette donnée n'était pas disponible systématiquement (mention « non explicité »). A titre d'exemple, la première longue série de cas, décrite en 2015 par Hodgson et al. (20 patients), montre principalement des inclusions localisées uniquement dans les neutrophiles (16/20), et beaucoup moins fréquemment dans les neutrophiles et les monocytes (2/20), ou dans les monocytes uniquement (2/20). Pour certains de ces

cas, une unique cellule était concernée, tandis que pour d'autres, les inclusions pouvaient concerner 1 à 2% des neutrophiles du frottis sanguin.

Il semble donc que les inclusions soient préférentiellement observées dans les neutrophiles. Hodgson et al. rapportent par ailleurs que le ratio médian des neutrophiles par rapport aux monocytes sur les frottis sanguins étudiés (11 pour 1) est bien inférieur au ratio de neutrophiles contenant des GGD par rapport aux monocytes contenant des GGD.

Cette différence de fréquence d'observation des GGD dans les neutrophiles et les monocytes n'est pas totalement comprise. Une hypothèse suggère que les neutrophiles sont capables de phagocyter certains composés comme des bactéries plus efficacement que les monocytes (Verbrugh et al. 1978). De plus, comme montré par Hodgson et al., les neutrophiles sont généralement présents en plus large proportion sur les frottis sanguins par rapport aux monocytes, ce qui peut rendre la détection de telles inclusions au sein de ces derniers bien plus difficile.

Les proportions de cellules contenant des GGD sur un frottis sanguin sont donc variables : de moins d'un pourcent des cellules à 21% des neutrophiles pour un cas (Courville et al. 2017). Une étude récapitulative rapporte que ces inclusions concernent en moyenne entre 1 et 10% des neutrophiles lorsqu'elles sont observées (Yang, Gabali 2018). Rappelons que l'interprétation de ces pourcentages est limitée par le manque d'explication des protocoles de comptage des cellules sur le frottis dans les différentes études.

L'étude de Courville et al. suggère que ces inclusions souffrent d'un manque de détection par leur caractère rare : moins de 1% des neutrophiles ou des monocytes sont souvent concernés pour les cas qui y sont étudiés, ce qui représente une proportion encore inférieure si elle est rapportée à la totalité des leucocytes du frottis sanguin. Ce n'est pas la seule étude soulignant la rareté de ces inclusions et expliquant que la proportion de cellules contenant des GGD est probablement sous-estimée, ce qui serait à l'origine d'une sous-détection de ces inclusions (Gorup et al. 2018; Patel et al. 2017). D'autres d'arguments soutiennent ce point : difficulté de différenciation entre les GGD et d'autres inclusions cytoplasmiques (comme les corps de Döhle, les bactéries, *Babesia spp.*, *Ehrlichia spp.*, *Anaplasma spp.*) ou les changements cytoplasmiques (granulations toxiques), inclusions ignorées par manque de

conscience de leur signification (Courville et al. 2017), nécessité d'un balayage large du frottis sanguin (Bowen, Koutsavlis 2020).

Il serait intéressant de savoir si la proportion de cellules contenant des GGD est corrélée à l'évolution clinique des patients et notamment à un possible mauvais pronostic à court terme. Un auteur suggère toutefois sans preuve, que plus le nombre de neutrophiles avec inclusions serait important, plus les lésions tissulaires pourraient être étendues, car une plus grande quantité de lipofuscine pourrait être libérée par du tissu hépatique nécrosé et par la suite absorbée par les neutrophiles. Le pourcentage de neutrophiles avec inclusions pourrait alors être utile en tant que valeur pronostique dans le cadre de l'évaluation de l'état de santé des patients (Vicente-Steijn et al. 2020). Notons cependant que dans une étude, le patient ayant présenté le pourcentage le plus élevé de neutrophiles contenant des inclusions (21%) n'est pas décédé alors que certains patients en présentant dans moins de 1% des cellules circulantes sont décédés en moins de 3 jours (Courville et al. 2017).

Une étude, publiée en 2024, propose pour la première fois de présenter une analyse comparative sur les changements de couleur et de proportion des GGD dans les neutrophiles de deux patients (Chen et al. 2024). Dans cette étude, le premier patient est reçu pour une infection à un nouveau Bunyavirus et à son admission, aucune inclusion n'est détectée sur son frottis sanguin. Lors du quatrième jour d'hospitalisation, des GGD sont observés dans 2% des neutrophiles sur un premier frottis sanguin, puis dans 5% des neutrophiles sur le second frottis réalisé plus tard dans la journée. Les auteurs remarquent que les GGD du second frottis présentent une couleur plus intense (voir Figure 3). L'état du patient s'est ensuite rapidement dégradé et il est décédé ce même jour.

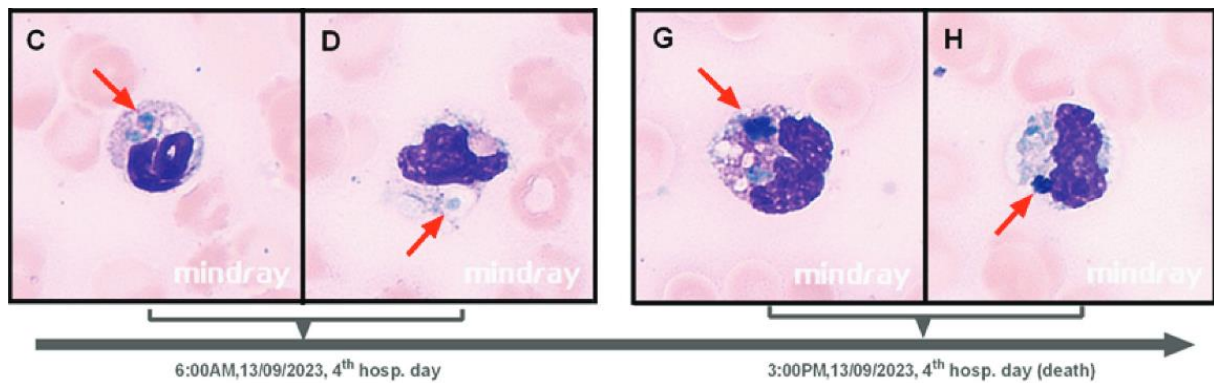


Figure 3 : Modifications dynamiques de l'aspect morphologique d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » chez le premier patient (Chen et al. 2024).

C et D : inclusions observées dans des neutrophiles issus du premier frottis sanguin (à 6h). G et H : inclusions observées dans des neutrophiles du second frottis (à 15h).

Le second patient est admis suite à des piqûres de guêpes qui ont provoqué des lésions sévères. Le jour de l'admission, des inclusions rondes, bleu-vert et sombres sont observées dans 3% des neutrophiles du frottis. 12 jours plus tard, un autre frottis permet d'observer des GGD dans 1% des neutrophiles, d'une couleur beaucoup plus claire (voir Figure 4). Le jour suivant, ce patient est sorti d'hospitalisation.

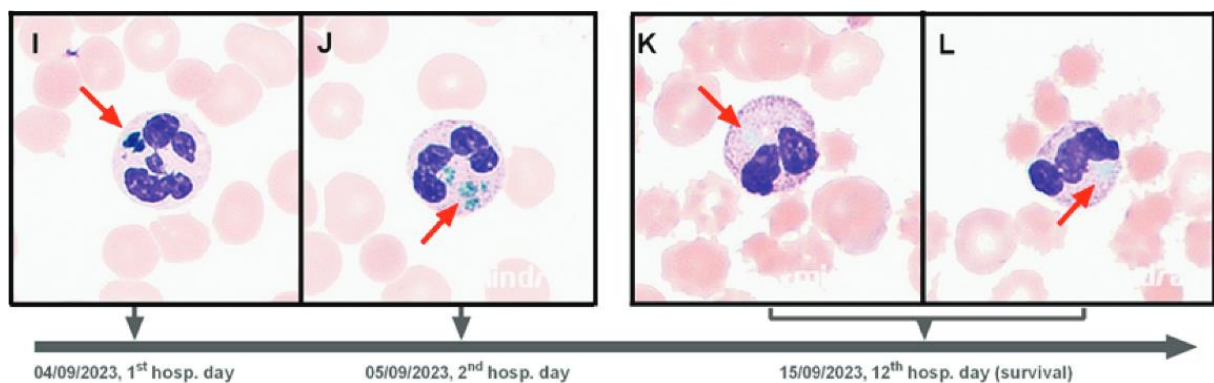


Figure 4 : Modifications dynamiques de l'aspect morphologique d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » chez le deuxième patient (Chen et al. 2024).

I et J : inclusions observées dans des neutrophiles lors du premier (I) et du deuxième (J) jour d'hospitalisation. K et L : inclusions observées dans des neutrophiles lors du douzième jour d'hospitalisation.

Les auteurs remarquent que le patient qui a présenté une augmentation du nombre de neutrophiles contenant des GGD dans le temps a aussi montré une intensification de leur coloration, et est décédé. En revanche, le patient qui a présenté

une diminution du nombre de neutrophiles contenant des GGD dans le temps a quant à lui montré une diminution de l'intensité de leur coloration, et s'est rétabli. Ils en concluent qu'une corrélation entre la variation de couleur des GGD et le pronostic mais aussi entre l'évolution du pourcentage de neutrophiles contenant des GGD dans le temps et le pronostic sont envisageables. Cependant davantage d'études seraient nécessaires pour le confirmer.

En résumé, les GGD sont des découvertes rares issues de l'observation de frottis de sang périphérique, et le nombre de cas rapportés est relativement faible. On note cependant que leur identification et leur caractérisation s'améliore en médecine humaine. De nouvelles études renforcent les hypothèses qui ont été établies à leur sujet depuis une dizaine d'années, proposent de nouvelles manières de les caractériser et appellent à une prise de conscience de leur importance. En effet, une meilleure connaissance de ces inclusions et de leurs implications renforcera notre compréhension de leur étiologie et de leur signification diagnostique et pronostique (Courville et al. 2017). Aussi, certains préconisent que les laboratoires signalent systématiquement leur présence sur le frottis de sang périphérique aux équipes de cliniciens chargées des cas.

2.3. Mise en évidence par des colorations spécifiques

Nous avons précédemment vu qu'avec la coloration de Wright-Giemsa, qui est couramment utilisée en hématologie, les GGD apparaissent de couleur bleu-vert et ont un aspect réfringent en microscopie optique (Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017; Haberichter, Crisan 2017). Davantage de colorations spécifiques ont été testées au cours des études afin de caractériser plus précisément ces inclusions. Le Tableau 3 présente les différentes colorations spécifiques qui ont été utilisées et leur résultat selon les études, et rappelle les éléments mis en évidence par chacune d'entre elles.

Coloration spécifique	Élément mis en évidence	Résultat de la coloration spécifique (source)
Oil Red O	Triglycérides neutres et lipides (orange, rouge)	Positif (Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017) Non interprétable (Courville et al. 2017)
Ziehl-Neelsen longue	Composés acido-alcoolo résistants (violet)	Positif (Hodgson et al. 2015 ; Courville et al. 2017)
Coloration de Hall (Fouchet)	Pigments biliaires (vert)	Négatif (Harris et al. 2009 ; Jazaerly, Gabali 2014 ; Patel et al. 2017)
Coloration de Perls (bleu de Prusse)	Fer (bleu)	Négatif (Jazaerly, Gabali 2014 ; Hodgson et al. 2015 ; Patel et al. 2017 ; Courville et al. 2017)
Myéloperoxydase	Neutrophiles, éléments cellulaires myéloïques, granulations myéloperoxydasiques (rouge)	Négatif (Jazaerly, Gabali 2014 ; Hodgson et al. 2015 ; Patel et al. 2017 ; Courville et al. 2017)
Periodic Acid Schiff	Glucides (polysaccharides type mucopolysaccharides, glycoprotéines et glycogène) (rose)	Négatif (Hodgson et al. 2015 ; Patel et al. 2017 ; Courville et al. 2017)
Rhodanine	Cuivre (orange, rouge)	Négatif (Patel et al. 2017)
Gram	Bactéries type Gram+ (violet) et Gram- (rose)	Négatif (Hodgson et al. 2015)
Argent de méthénamine de Gömöri	Organismes fongiques, structures argentaffines dans les tissus histologiques (noir)	Négatif (Hodgson et al. 2015 ; Courville et al. 2017)
Warthin-Starry	Bactéries type spirochètes et <i>Helicobacter pylori</i> (noir)	Négatif (Hodgson et al. 2015)
Hématoxyline et éosine	Éléments cellulaires acides (bleu, violet) et basiques (rose, orange, rouge)	Positif (Patel et al. 2017)

Tableau 3 : Etat des lieux sur les résultats des colorations spécifiques qui ont été utilisées pour caractériser les inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » en médecine humaine.

La coloration Oil Red O (ORO) a donné des résultats différents selon les études. Les inclusions sont positives pour Hodgson et al. et Patel et al., publications pour lesquelles les inclusions identifiées avec cette coloration spécifique sont de taille et de fréquence similaires à celles observées sur les lames colorées au Wright-Giemsa (voir Figures 5 et 6). Cette positivité renforce l'idée que les inclusions ont probablement un contenu lipidique élevé et correspondent donc à un composé proche de la lipofuscine. Cependant, cette coloration est non conclusive dans l'étude de Courville et al., dans laquelle aucune inclusion n'a pu être observée. Dans ce cas précis, cette négativité des résultats doit être interprétée avec précaution car les auteurs estiment que la rareté des inclusions et le fond des lames qui était trop coloré ne permettaient pas de les identifier correctement (Courville et al. 2017).

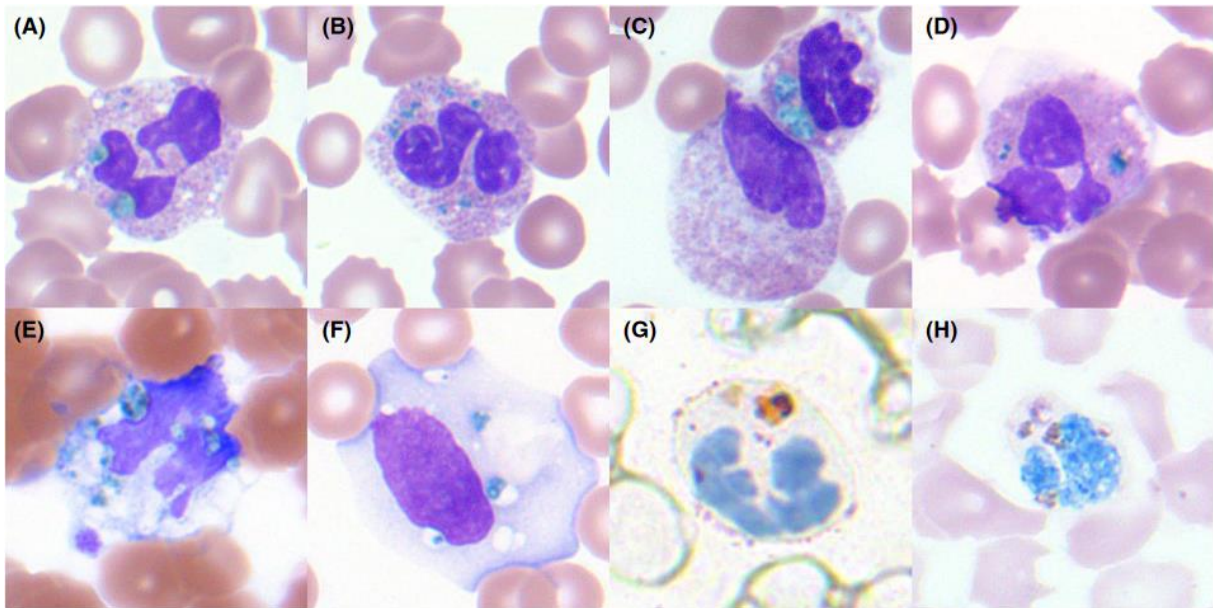


Figure 5 : Multiples inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » dans des cellules de sang périphérique humain observées au microscope optique (grossissement x1000) (Hodgson et al. 2015).
 De A à F : coloration de Wright-Giemsa (A-D : neutrophiles, E-F : monocytes) ; G : Oil red O (positive) ; H : Ziehl-Neelsen (positive).

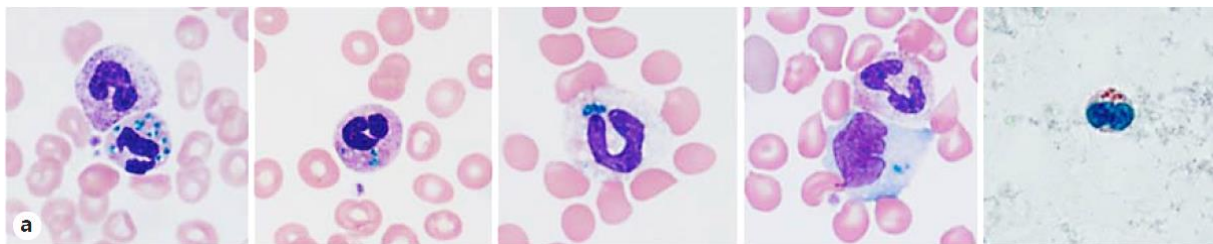


Figure 6 : Observation d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur des frottis de sang humain en microscopie optique (grossissement x1000) (Patel et al. 2017).
 En partant de la gauche : observation dans des neutrophiles colorés au Wright-Giemsa (trois premières images), dans un monocyte coloré au Wright-Giemsa (quatrième image) et dans un neutrophile coloré avec une coloration ORO (dernière image, résultat positif).

La coloration de Ziehl-Neelsen longue a montré que les inclusions sont acido-alcoolo-résistantes (voir Figures 5H et 7), ce qui est aussi compatible avec leur richesse en lipides (Hodgson et al. 2015 ; Courville et al. 2017).

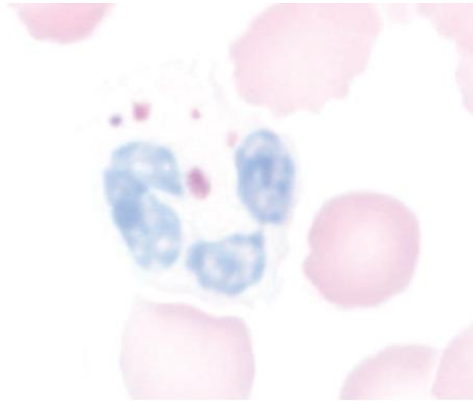


Figure 7 : Inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » acido-alcoolo résistantes observées dans un neutrophile de sang humain avec une coloration de Ziehl-Neelsen au microscope optique (grossissement x100) (Courville et al. 2017).

Des lames préalablement colorées avec du Wright-Giemsa puis décolorées à l'alcool et recolorées à l'hématoxyline et à l'éosine ont montré des inclusions de type GGD avec une coloration jaune-brun (voir Figure 8), rappelant la couleur de la lipofuscine avec ce type de coloration (Patel et al. 2017).

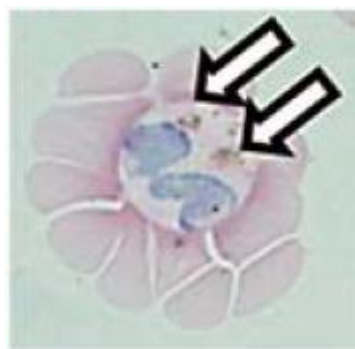


Figure 8 : Observation en microscopie optique d'un neutrophile de sang humain coloré à l'hématoxyline et à l'éosine montrant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » de couleur jaune-brun, désignées par les deux flèches (Patel et al. 2017).

Les autres colorations spécifiques utilisées (bilirubine de Hall, bleu de Prusse (Perls), myéloperoxydase, *Periodic Acid Schiff* (PAS), rhodanine, Gram, argent de méthénamine de Gömöri, Warthin-Starry) ont toujours donné des résultats négatifs

(Harris et al. 2009; Jazaerly, Gabali 2014; Hodgson et al. 2015; Courville et al. 2017; Patel et al. 2017).

Enfin, ces résultats sont en accord avec l'hypothèse d'inclusions riches en lipides, et suggèrent que les GGD peuvent effectivement correspondre à une substance de type céroïde-lipofuscine ou « *lipofuscin-like* », bien que la négativité au PAS soit un élément rapporté comme atypique (Hodgson et al. 2015). La composition chimique et les propriétés de coloration de la lipofuscine et du céroïde dépendent notamment des organes concernés et de l'état pathologique (par exemple : grande quantité de rétinoïdes dans l'épithélium pigmentaire rétinien vs. grande quantité de β -amyloïde dans les neurones). De ce fait, il est envisageable que la lipofuscine ou ses dérivés puissent donner des résultats atypiques.

2.4. Microscopie électronique à transmission

Les observations d'inclusions de type GGD en microscopie électronique à transmission (MET) sont peu nombreuses : seules deux études ont pu fournir des résultats.

Dans l'étude de Hodgson et al., la MET a été réalisée sur des neutrophiles de sang périphérique purifiés issus de deux cas, et a montré des inclusions cytoplasmiques osmiophiles (qui réagissent à l'osmium tétroxyde), dont la taille et le pattern étaient comparables à ceux observés en microscopie optique (voir Figure 9). En MET, l'osmiophilie concerne généralement les substances riches en lipides, telles que les membranes biologiques ou les vésicules (Hodgson et al. 2015).

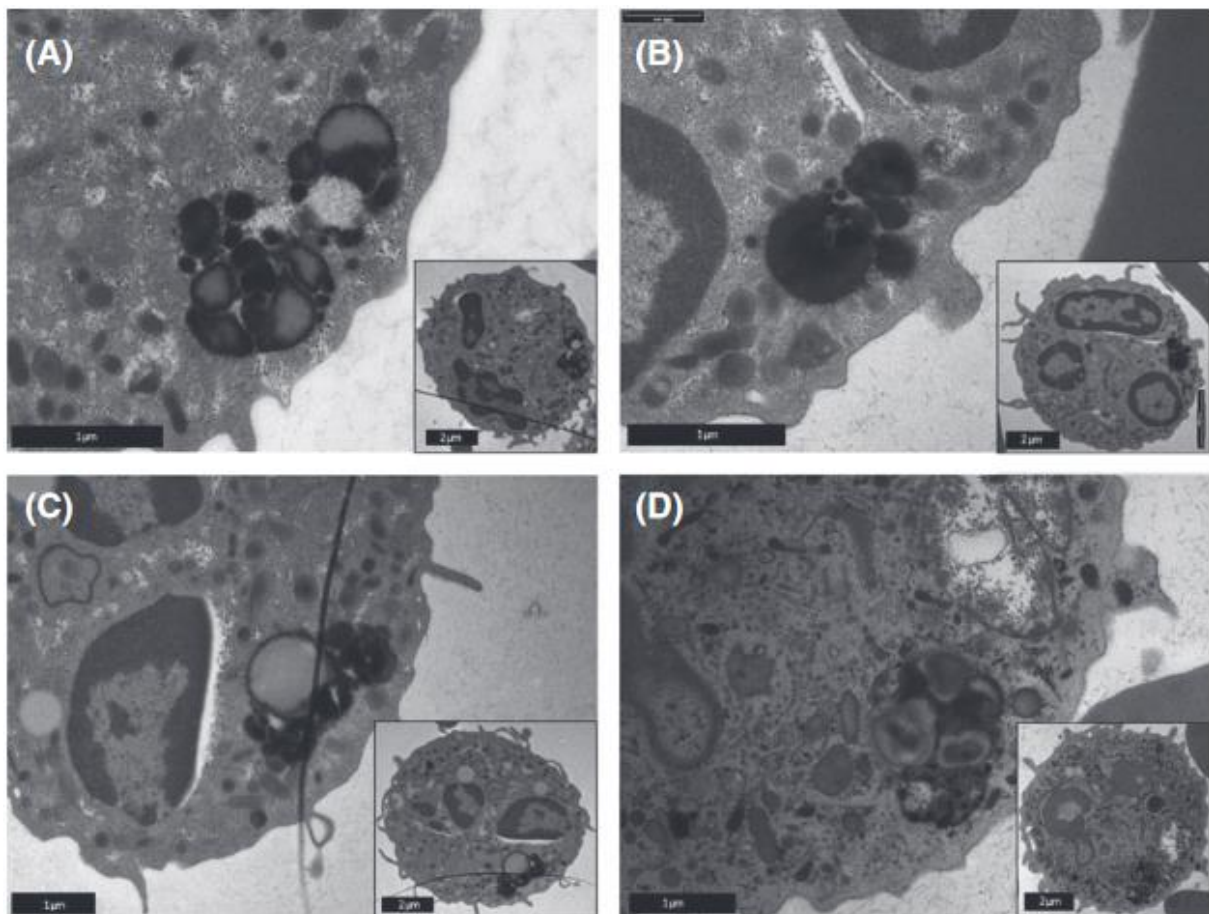


Figure 9 : Images d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » dans des neutrophiles de sang humain observées en microscopie électronique à transmission (Hodgson et al. 2015).

Chaque image possède son échelle (voir les barres de 1 µm et de 2 µm).

Dans l'étude de Patel et al., les examens de MET ont été réalisés sur des *buffy-coat* de sang périphérique. Une recherche préalable de GGD a été faite par microscopie optique puis des petites sections des zones d'intérêt ont été examinées en MET. Les images montraient alors des inclusions neutrophiliques denses aux électrons, de taille et de fréquence similaires aux inclusions de type GGD observées sur les frottis sanguins. Ces inclusions présentaient de la même manière des propriétés osmiophiles avec une périphérie dense aux électrons, des densités centrales amorphes et translucides aux électrons, et elles étaient parfois associées à une matrice dense aux électrons (voir Figure 10).

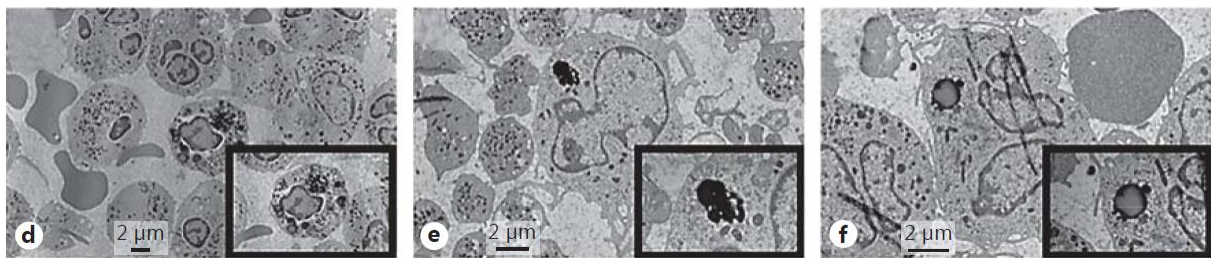


Figure 10 : Images issues d'examens de microscopie électronique à transmission réalisés sur des leucocytes de sang humain, montrant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » densément osmiophiles en périphérie avec un matériel homogène et clair compatible avec des lipides (Patel et al. 2017).

Chaque image possède son échelle (voir les barres de 1 µm et de 2 µm).

Les observations faites en MET contribuent donc à l'hypothèse faite sur la nature des GGD (substance type « *ceroid-lipofuscin-like* »). Hodgson et al. ajoutent que leur aspect au microscope électronique est similaire à celui rapporté pour la lipofuscine neuronale.

2.5. Caractéristiques fluorescentes

L'autofluorescence des GGD a été testée dans deux études (Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017). Hodgson et al. l'ont évaluée sur des inclusions colorées au Giemsa, et Patel et al. sur des frottis non colorés ou colorés au Wright-Giemsa. Dans les deux cas, aucune autofluorescence n'a été observée. Notons que, de la même manière que la négativité au PAS vue précédemment, l'absence d'autofluorescence est atypique pour de la lipofuscine (Seehafer, Pearce 2006).

Patel et al. ont proposé une caractérisation des GGD par l'utilisation d'un colorant fluorescent lipophile nommé « BODIPY ». Ils ont montré que les inclusions d'un patient de leur étude étaient positives au colorant fluorescent lipophile « BODIPY » en comparaison avec des cellules d'un spécimen témoin sélectionné aléatoirement (voir Figure 11). Celles-ci avaient une taille et une distribution similaires aux inclusions d'intérêt initialement observées sur le frottis de ce patient. Cependant, une comparaison directe et quantifiable entre les inclusions observées en microscopie optique et celles observées avec le colorant fluorescent « BODIPY » n'a pas été réalisée (Patel et al. 2017). Ce résultat supplémentaire est lui aussi en faveur d'une composition riche en lipides.

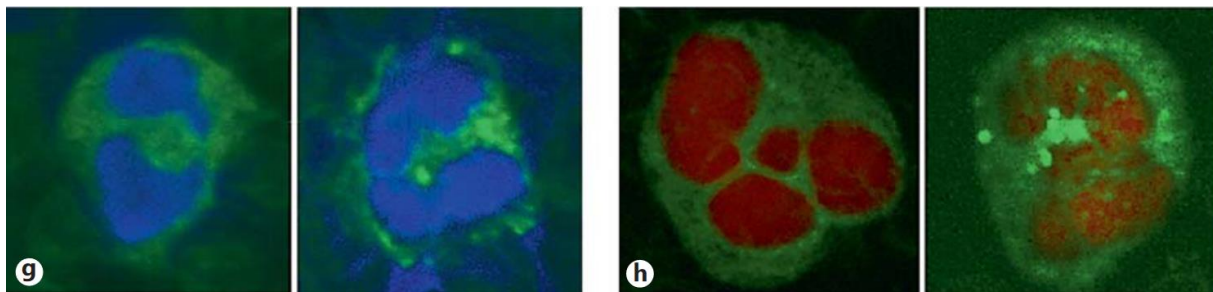


Figure 11 : Observations obtenues par microscopie à fluorescence réalisées avec le colorant BODIPY (apparaît en vert fluo) sur des cellules provenant d'un spécimen témoin (g et h à gauche) et sur des cellules provenant du patient sélectionné présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » (g et h à droite) (Patel et al. 2017).

g : fluorescence standard, coloration DAPI du noyau (bleu) ; h : microscopie à fluorescence à super-haute résolution par épuisement de l'émission stimulée (STED), coloration DRAQ5 du noyau (rouge).

Dans l'optique de mieux évaluer l'intérêt de la détection d'inclusion de type GGD et ainsi tenter d'améliorer les soins apportés aux patients, Patel et al. suggèrent qu'à l'avenir, la possibilité de colorer par fluorescence ou même d'effectuer un tri cellulaire activé par fluorescence (FACS) sur les patients malades critiques présentant ce type d'inclusions serait un bénéfice, même si ce sont les seuls à l'avoir proposé à ce jour.

2.6. Mortalité et affections associées

La première étude parue en 2009 a suivi deux patients, l'un souffrant d'une insuffisance hépatique aiguë secondaire à une overdose d'acétaminophène (hospitalisé moins d'un jour), l'autre d'un syndrome de défaillance multi-organique secondaire à un traumatisme (hospitalisé plusieurs semaines). Ces deux patients sont décédés dans les 24 heures suivant l'observation des GGD sur leur frottis sanguin. Pour le patient hospitalisé plusieurs semaines, aucune inclusion de ce type n'a été observée lors des précédents examens sanguins (Harris et al. 2009).

Suite à ces observations, Harris et al. ont conclu que la présence de telles inclusions pourrait d'une part présager un pronostic sombre et notamment une mort imminente, et d'autre part indiquer un dysfonctionnement du système hépatobiliaire. Ils reconnaissent cependant qu'il faudrait davantage de cas pour valider ces hypothèses.

Depuis, ces inclusions ont été plus largement reportées. Elles sont détectées le plus souvent fortuitement, lors d'affections graves puisque la plupart des patients concernés sont admis en unité de soins intensifs (Patel et al. 2017). Plus les rapports de cas s'accumulent, plus les affections décrites sont variées : polytraumatismes, overdoses médicamenteuses, syndromes de défaillance multi-organique, rejets de greffes hépatiques, maladies auto-immunes, lymphohistiocytose hémophagocytaire, pneumonies, encéphalopathies métaboliques, lésion cérébrale traumatique, sepsis (*Escherichia Coli*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecium*, *méningocoques*, *Enterobacter cloacae*), bactériémie (*Pandoraea apista*), maladies infectieuses virales (COVID-19, fièvre jaune, bunyavirus), syndrome de fièvre sévère avec thrombocytopenie, paludisme, infections fongiques et tumeurs métastatiques (pancréas, foie, rein) (liste non exhaustive). Elles sont également souvent associées à de nombreuses comorbidités (maladies auto-immunes, maladies rénales, processus néoplasiques, hypertension artérielle, insuffisance cardiaque, pneumopathies, coagulopathies, etc ...) (Jazaerly, Gabali 2014; Hodgson et al. 2015; Haberichter, Crisan 2017; Courville et al. 2017; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; Hodgkins, Jones 2018; Gorup et al. 2018; Sin et al. 2019; Soos et al. 2019; Cantu et al. 2020; Dienstmann et al. 2020; McGinnis, Smith 2020; Vicente-Steijn et al. 2020; Bowen, Koutsavlis 2020; Merino et al. 2021; Shackleton et al. 2021; Martins et al. 2022; Rivera

et al. 2022; Li et al. 2022; Jiang et al. 2023; Long et al. 2023; Zhang et al. 2023; Chen et al. 2024).

Face à la pluralité de ces affections, des points communs semblent se dégager. En effet, la quasi-totalité des cas présentant des GGD ont présenté des lésions hépatocellulaires sévères engendrant une insuffisance hépatique. Notons également une récurrence de lésions rénales et cardiaques, de cas de sepsis et de maladies néoplasiques métastatiques, même si cette récurrence reste moins marquée que pour les lésions hépatiques.

Ce constat renforce l'hypothèse d'une origine hépatique des inclusions bleu-vert, même s'il existe des cas ne démontrant pas de lien direct entre ces dernières et des lésions hépatiques réellement mises en évidence (Courville et al. 2017).

Le Tableau 4 présente un résumé des données de chacune des 25 études disponibles concernant la mortalité, dont la mortalité après détection des GGD dans les 3 jours et les 14 jours suivant leur observation, et donne à titre indicatif l'intervalle des jours de survie à partir de la détection.

Etude	Proportion de patients décédés (% par rapport au nombre de cas)	Mortalité inférieure à 3 jours suivant l'observation des inclusions (% par rapport au nombre de patients décédés)	Mortalité inférieure à 14 jours suivant l'observation des inclusions (% par rapport au nombre de patients décédés)	Jours de survie après l'observation des inclusions
Harris, Malysz, Smith 2009	2/2 (100 %)	2 (100 %)	2 (100 %)	1
Jazaerly, Gabali 2014	1/1 (100 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	1
Hodgson et al. 2015	13/20 (65 %)	12 (92%)	13 (100 %)	1 - 11
Patel et al. 2017	14/25 (56 %)	8 (57 %)	11 (79 %)	0 - 59
Haberichter, Crisan 2017	3/5 (60 %)	1 (33 %)	3 (100 %)	1 - 13
Courville et al. 2017	6/13 (46 %)	0 (0 %)	2 (33 %)	6 - 599
Gorup et al. 2018	1/2 (50 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	0
Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018	0/1 (0 %)	-	-	-
Hodgkins, Jones 2018	1/1 (100 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	1
Sin et al. 2019	1/1 (100 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	2
Soos et al. 2019	1/1 (100 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	2
Cantu et al. 2020	6/6 (100 %)	5 (83 %)	6 (100 %)	1 - 10
Dienstmann et al. 2020	1/1 (100 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	2
McGinnis, Smith 2020	1/1 (100 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	0
Vicente-Steijn et al. 2020	0/2 (0 %)	-	-	-
Bowen, Koutsavilis 2020	0/1 (0 %)	-	-	-
Merino et al. 2021	6/9 (67 %)	3 (50 %)	6 (100 %)	1 - 10
Shackelton et al. 2021	0/1 (0%)	-	-	-
Martins et al. 2022	6/7 (86 %)	4 (67 %)	6 (100 %)	1 - 5
Rivera et al. 2022	1/1 (100 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	0
Li et al. 2022	1/1 (100 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	1
Jiang et al. 2023	1/1 (100 %)	0 (0 %)	1 (100 %)	6
Long et al. 2023	0/1 (0%)	-	-	-
Zhang et al. 2023	1/1 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	89
Chen et al. 2024	1/2 (50 %)	1 (100 %)	1 (100 %)	0

Tableau 4 : Données sur la mortalité des différentes études rapportant la détection d'inclusions bleu-vert de type « green granules of death » sur le frottis sanguin en médecine humaine.

Au total, 107 cas ont été étudiés jusqu'à aujourd'hui et la mortalité globale est de 64% (68/107). 66% des patients décédés l'ont été en moins de 3 jours après observation des GGD (45/68), et 88% en moins de 14 jours après observation des GGD (60/68).

De fait, la plupart des études qui dressent le bilan de leurs observations expriment le fait que les GGD semblent être associés à un pronostic sombre mais aussi à une mort imminente. Cependant, leur cohorte correspond en général à un nombre de cas réduit et l'association entre la présence de GGD sur le frottis sanguin et une mort imminente transparait davantage que lorsqu'on regarde les données dans leur totalité.

En effet, des études isolées nuancent ce point puisque la mortalité à court terme parmi les patients décédés (moins de 2 semaines après l'observation des GGD) y atteint de plus faibles proportions. C'est notamment le cas dans l'étude de Courville et al. où seulement 2 patients sur 6, soit 33 % décèdent en moins de 14 jours après la détection des GGD (en comparaison avec la mortalité à court terme globale de 88%). Quant au « pronostic sombre », il existe une proportion non négligeable des patients (39/107) qui récupèrent totalement de l'affection pour laquelle ils étaient admis en hospitalisation, dont quelques-uns ne présentant pas de maladies « graves » (Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017; Haberichter, Crisan 2017; Courville et al. 2017; Gorup et al. 2018; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; Vicente-Steijn et al. 2020; Bowen, Koutsavlis 2020; Merino et al. 2021; Shackleton et al. 2021; Martins et al. 2022; Long et al. 2023; Chen et al. 2024). Par exemple, dans l'étude de Courville et al., un patient de 81 ans traité en ambulatoire avait des antécédents de cancer prostatique (traité), d'insuffisance rénale chronique, d'anémie et de gammopathie monoclonale d'origine indéterminée, mais ne présentait aucun signe de maladie grave lors de la détection des GGD sur son frottis sanguin. Ce dernier a été suivi pendant plus de 2 ans et n'a pas présenté d'évolution défavorable.

Notons que l'admission dans une unité de soins intensifs s'accompagne d'un taux de mortalité élevé, qui dépend fortement de l'âge, de la gravité de la maladie et de nombreux autres facteurs. Par exemple, la septicémie sévère présente à elle seule un taux de mortalité pouvant atteindre 30 % (Gorup et al. 2018). Ainsi, la durée du séjour dans une unité de soins intensifs comporte un risque indépendant

d'augmentation de la mortalité. En d'autres termes, les patients gravement malades et admis dans une unité de soins intensifs sont plus susceptibles de développer une défaillance organique multi-systémique, y compris une défaillance hépatique, conduisant au décès, que des GGD puissent ou non être identifiés sur le frottis sanguin périphérique de ces patients. Certains auteurs pensent donc que la détection de GGD ne devrait pas être assimilée à un indicateur de mauvais pronostic pour un certain nombre de raisons, dont la première est l'impossibilité de modifier les décisions cliniques sur la base de leur détection, car cela pourrait dicter l'arrêt des soins ou d'autres préjudices pour le patient (Gorup et al. 2018; Bowen, Koutsavlis 2020).

Etant donné que de nombreuses séries de cas présentant ces inclusions font état d'un décès précoce, les études s'accordent finalement sur la nécessité de surveiller attentivement les organes vitaux, et principalement les lésions hépatiques les plus graves (Bowen, Koutsavlis 2020).

2.7. Description des variables hématologiques et biochimiques associées

La détection des GGD est souvent associée à un tableau biologique modifié. Même si toutes les études ne fournissent pas de données hématologiques et biochimiques précises et exhaustives, certaines anomalies semblent récurrentes.

Concernant les variables hématologiques, au moment de l'observation des GGD, 52 patients sur 69 évalués (75 %) sont thrombopéniques (Harris et al. 2009; Patel et al. 2017; Courville et al. 2017; Gorup et al. 2018; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; Hodgkins, Jones 2018; Soos et al. 2019; Merino et al. 2021; Shackleton et al. 2021; Martins et al. 2022; Rivera et al. 2022; Li et al. 2022; Long et al. 2023; Zhang et al. 2023; Chen et al. 2024) et 47 sur 60 sont anémiés (78 %) (Harris et al. 2009; Jazaerly, Gabali 2014; Patel et al. 2017; Courville et al. 2017; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; Soos et al. 2019; Merino et al. 2021; Shackleton et al. 2021; Rivera et al. 2022; Li et al. 2022; Long et al. 2023).

Sur 60 patients pour lesquels l'information est disponible dans les études, 34 présentent une leucocytose neutrophilique, soit 57 % (Harris et al. 2009; Jazaerly, Gabali 2014; Patel et al. 2017; Haberichter, Crisan 2017; Courville et al. 2017; Martins et al. 2022; Rivera et al. 2022; Li et al. 2022; Long et al. 2023; Chen et al. 2024). Cependant, il existe une part non négligeable de cas pour lesquels une neutrophilie

est présente (parfois annoncée isolée) mais où il n'est pas possible de trouver davantage de précision (numération totale des leucocytes absente, numération des neutrophiles absente) (Cantu et al. 2020; McGinnis, Smith 2020; Vicente-Steijn et al. 2020; Shackleton et al. 2021). Ces cas-là n'ont pas été comptabilisés dans notre résumé puisqu'il n'est pas possible de savoir si cette neutrophilie est isolée ou si elle est à l'origine d'une leucocytose. Enfin, certains rapports de cas décrivent des valeurs absolues de leucocytes sans en donner d'interprétation, parfois sans mentionner d'intervalle de référence (IR), ou ne décrivent aucune valeur (Gorup et al. 2018; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; Hodgkins, Jones 2018; Sin et al. 2019; Soos et al. 2019; Dienstmann et al. 2020; Bowen, Koutsavlis 2020; Merino et al. 2021; Jiang et al. 2023; Zhang et al. 2023). Par conséquent, la proportion de patients présentant une leucocytose neutrophilique au moment de l'observation des GGD mentionnée plus haut (57 %) est probablement sous-estimée.

Enfin, 24 patients sur 28 évalués présentent une déviation de la courbe d'Arnetz vers la gauche (86 %) (Harris et al. 2009; Hodgson et al. 2015; Haberichter, Crisan 2017; McGinnis, Smith 2020; Rivera et al. 2022) et 39 sur 45 (87 %) présentent des signes de toxicité (granulations toxiques, vacuoles cytoplasmiques) dans leurs neutrophiles (Harris et al. 2009; Jazaerly, Gabali 2014; Hodgson et al. 2015; Haberichter, Crisan 2017; Sin et al. 2019; Cantu et al. 2020; McGinnis, Smith 2020; Shackleton et al. 2021; Martins et al. 2022). Un leucogramme « inflammatoire » accompagne donc fréquemment la détection des GGD.

D'autres anomalies morphologiques ont pu être rapportées (acanthocytes, « images leuco-érythroblastiques », hémolyse, polychromatophilie, sphérocytose, lymphocytes atypiques, macroplaquettes, plaquettes géantes, blastes myéloïdes) mais trop rarement et inconstamment pour présenter un intérêt dans le cadre des GGD (Jazaerly, Gabali 2014; Hodgson et al. 2015; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; McGinnis, Smith 2020; Martins et al. 2022; Rivera et al. 2022). De plus, de nombreuses comorbidités touchent la plupart des patients et rendent globalement difficile l'interprétation de telles anomalies en regard des GGD. De fait aucune spécificité ne leur est attribuable.

Concernant les variables biochimiques et l'hémostase, les principaux résultats obtenus en médecine humaine, qui portent surtout sur le lésionnel hépatique, sont résumés dans le Tableau 5.

Etude (nombre de cas)	Nombre de valeurs augmentées par variable biochimique (nombre de patients testés)									
	ASAT	ALAT	PAL	GGT	Bilirubine totale	Créatinine	Lactates	TQ	TCA	
Harris, Malysz, Smith 2009 (2)	2 (2)	2 (2)	-	-	2 (2)	-	1 (1)	-	-	
Jazaerly, Gabali 2014 (1)	1 (1)	1 (1)	-	-	1 (1)	1 (1)	-	1 (1)	1 (1)	
Hodgson et al. 2015 (20)	10 (10)	17 (18)	8 (19)	12 (17)	10 (20)	14 (20)	14 (15)	-	-	
Patel et al. 2017 (25)	23 (25)	23 (25)	14 (25)	1 (3)	15 (22)	14 (25)	-	20 (21)	-	
Haberichter, Crisan 2017 (5)	5 (5)	5 (5)	-	-	-	-	-	-	-	
Courville et al. 2017 (13)	9 (11)	8 (12)	7 (12)	-	6 (12)	-	6 (9)	-	-	
Gorup et al. 2018 (2)	2 (2)	1 (2)	1 (2)	-	2 (2)	2 (2)	2 (2)	0 (2)	2 (2)	
Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (1)	-	1 (1)	1 (1)	0 (1)	-	-	
Hodgkins, Jones 2018 (1)	1 (1)	1 (1)	-	-	-	1 (1)	1 (1)	-	-	
Sin et al. 2019 (1)	-	1 (1)	-	-	-	-	1 (1)	-	-	
Soos et al. 2019 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	-	1 (1)	1 (1)	1 (1)	-	-	
Cantu et al. 2020 (6)	6 (6)	6 (6)	-	-	-	-	6 (6)	-	-	
Dienstmann et al. 2020 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
McGinnis, Smith 2020 (1)	1 (1)	1 (1)	-	-	-	-	1 (1)	-	-	
Bowen, Koutsavlis 2020 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Merino et al. 2021 (11)	11 (11)	10 (11)	-	11 (11)	6 (11)	-	8 (11)	8 (11)	-	
Shackelton et al. 2021 (1)	-	1 (1)	-	-	-	1 (1)	1 (1)	-	1 (1)	
Martins et al. 2022 (7)	7 (7)	7 (7)	-	-	-	-	-	-	-	
Rivera et al. 2022 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (1)	1 (1)	1 (1)	-	-	
Li et al. 2022 (1)	1 (1)	1 (1)	-	-	-	0 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	
Jiang et al. 2023 (1)	1 (1)	1 (1)	-	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	-	1 (1)	
Long et al. 2023 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	-	1 (1)	-	-	-	-	
Zhang et al. 2023 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Chen et al. 2024 (2)	2 (2)	2 (2)	-	2 (2)	1 (2)	-	1 (2)	-	2 (2)	
Total	85 (90)	91 (101)	32 (62)	28 (35)	47 (77)	37 (55)	46 (55)	30 (36)	8 (8)	
Total en %	94.4	90.1	51.7	80.0	61.0	67.3	83.6	83.3	100	

Tableau 5 : Présentation des résultats de biochimie plasmatique et hémostase à partir des diverses études rapportant la détection d'inclusions bleu-vert de type « green granules of death » sur le frottis sanguin en médecine humaine.

ASAT : Aspartate aminotransférase, ALAT : Alanine aminotransférase, PAL : Phosphatase alcaline, GGT : Gamma glutamyl-transférase, TQ : Temps de Quick, TCA : Temps de céphaline activé

Toutes les données de ce tableau sont issues d'analyses réalisées sans délai après la détection des inclusions bleu-vert de type GGD, ou après un délai variable (allant de quelques heures à 10 jours lorsque cette information est mentionnée dans les publications) voire inconnu.

On note premièrement une augmentation très fréquente de l'activité des transaminases hépatiques chez les cas présentant des GGD : 91/101 soit 90.1 % des patients testés pour les alanines aminotransférases (ALAT) et 85/90 soit 94.4 % des patients testés pour les aspartates aminotransférases (ASAT), suggérant un phénomène de cytolysse hépatique (Harris et al. 2009; Jazaerly, Gabali 2014; Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017; Haberichter, Crisan 2017; Courville et al. 2017; Gorup et al. 2018; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; Sin et al. 2019; Soos et al. 2019; Cantu et al. 2020; McGinnis, Smith 2020; Vicente-Steijn et al. 2020; Merino et al. 2021; Shackleton et al. 2021; Martins et al. 2022; Rivera et al. 2022; Li et al. 2022; Jiang et al. 2023; Long et al. 2023; Chen et al. 2024).

Moins fréquemment, une augmentation de l'activité des gamma-glutamyl transférases (GGT) (28/35 soit 80% des patients testés) et des phosphatases alcalines (PAL) (32/62 soit 51.7 % des patients testés), et une augmentation de la bilirubine totale (47/77 soit 61 % des patients testés) accompagne la présence de ces inclusions (Harris et al. 2009; Jazaerly, Gabali 2014; Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017; Courville et al. 2017; Gorup et al. 2018; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; Soos et al. 2019; Vicente-Steijn et al. 2020; Merino et al. 2021; Rivera et al. 2022; Jiang et al. 2023; Long et al. 2023; Chen et al. 2024). Cependant, ces dosages ont été réalisés sur une moins grande proportion de cas comparés aux transaminases hépatiques ce qui limite leur interprétation. Une étude décrit que le degré d'augmentation des PAL ne montre pas de différence significative sur l'issue clinique (mortalité, rétablissement) et que l'augmentation de la bilirubine totale n'est pas corrélée à une mortalité précoce (Courville et al. 2017). Etant donné que ces marqueurs varient plus largement et ne sont pas corrélés de manière directe à la détection des GGD, une association plus spécifique de l'origine hépatique primaire est privilégiée dans la plupart des études en comparaison avec l'origine biliaire proposée dans l'étude de Harris et al.

La créatinine a également été dosée chez un nombre non négligeable de cas et est augmentée pour 67.3 % d'entre eux (37/55).

Comme une minorité de patients présentent une activité sérique des transaminases dans l'intervalle de référence, et comme d'autres présentent une créatininémie élevée par exemple, certaines sources expliquent que la substance « *lipofuscin-like* » contenue dans les GGD peut provenir, de manière plus générale, de lésions dans différents tissus (comme le tissu rénal) et non pas uniquement du tissu hépatique. Il n'est malgré tout pas possible d'exclure des lésions hépatiques sub-cliniques à l'origine des inclusions pour ces cas-là. De la même manière, quelques patients présentant des GGD ne sont pas atteints de maladies « graves » (comme mentionné dans le paragraphe « 2.6. ») et ne présentent pas d'anomalies dans leurs analyses. Ces constats, même s'ils représentent une minorité de cas, compliquent la relation entre lésion tissulaire et présence de GGD sur le frottis sanguin (Courville et al. 2017).

On observe une hyperlactatémie chez 83.6 % des patients (46/55) pour lesquels des valeurs de lactates ont été mesurées au moment de la détection des inclusions. L'hyperlactatémie (parfois associée avec une acidémie) s'explique probablement par une combinaison des besoins accrus en oxygène des patients, de l'hypoperfusion des tissus et, dans certains cas, de la perte rapide de lactate déshydrogénase due à la nécrose des hépatocytes. La concomitance d'une hyperlactatémie (ou d'une acidose lactique) et des GGD paraît être, dès les premières études publiées, un facteur pronostique négatif, surtout lorsque la valeur de lactatémie est supérieure à 5 mmol/L (Hodgson et al. 2015).

Enfin, des mesures de temps de coagulation ont été menées dans un nombre réduit de cas, cependant 100 % (8/8) des patients examinés ont présenté un temps de céphaline activé (TCA) allongé, et 83.3% (30/36) un temps de Quick (TQ) allongé.

Davantage de variables clinico-pathologiques ont pu être analysées selon les études, mais de manière plus anecdotique (troponines I et T, gazométrie sanguine, créatine kinase, lactate déshydrogénase, urée, calcium, protéines totales, albumine, ionogramme, fer, glucose, transferrine, ferritine, procalcitonine, protéine C-réactive, fibrinogène, D-dimères, amylase, lipase, sérum amyloïde A protéine) (Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017; Courville et al. 2017; Gorup et al. 2018; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; Hodgkins, Jones 2018; Sin et al. 2019; Soos et al. 2019; Cantu et al. 2020; Merino et al. 2021; Shackleton et al. 2021; Rivera et al. 2022; Li et al. 2022;

Jiang et al. 2023; Long et al. 2023; Chen et al. 2024). Ces variables ne seront donc pas présentées dans cette étude.

Au bilan, l'activité des transaminases hépatiques et la lactatémie semblent être les principales variables d'intérêt qui ressortent de la littérature. Dans le Tableau 6, une étude de lien entre la mortalité et l'augmentation d'activité des transaminases, ainsi qu'entre la mortalité et la valeur de la lactatémie est présentée.

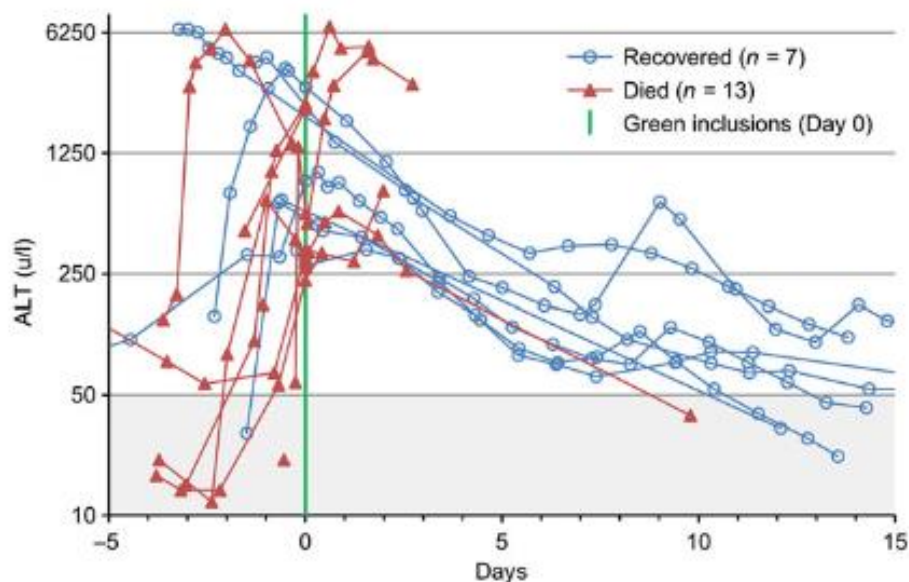
Etude (nombre de cas)	Nombre de morts selon le critère mentionné (nombre de cas qui présentent ce critère)					
	ASAT \uparrow	ASAT normal	ALAT \uparrow	ALAT normal	Lactates > 5 mmol/L	Lactates < 5 mmol/L
Harris, Malysz, Smith 2009 (2)	2 (2)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	-	-
Jazeera, Gabali 2014 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	-	-
Hodgson et al. 2015 (20)	6 (10)	0 (0)	11 (17)	1 (1)	9 (9)	1 (6)
Patel et al. 2017 (25)	14 (23)	0 (2)	13 (23)	1 (2)	-	-
Haberichter, Crisan 2017 (5)	3 (5)	0 (0)	3 (5)	0 (0)	-	-
Courville et al. 2017 (13)	5 (9)	1 (2)	4 (8)	2 (4)	2 (3)	3 (6)
Gorup et al. 2018 (2)	1 (2)	0 (0)	1 (1)	0 (1)	-	-
Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018 (1)	0 (1)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (1)
Hodgkins, Jones 2018 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Sin et al. 2019 (1)	-	-	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Soos et al. 2019 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Cantu et al. 2020 (6)	6 (6)	0 (0)	6 (6)	0 (0)	4 (4)	2 (2)
Dienstmann et al. 2020 (1)	-	-	-	-	-	-
McGinnis, Smith 2020 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Bowen, Koutsavilis 2020 (1)	-	-	-	-	-	-
Merino et al. 2021 (11)	6 (11)	0 (0)	5 (10)	1 (1)	3 (5)	3 (6)
Shackelton et al. 2021 (1)	-	-	0 (1)	0 (0)	0 (1)	0 (0)
Martins et al. 2022 (7)	-	-	-	-	-	-
Rivera et al. 2022 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Li et al. 2022 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Jiang et al. 2023 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Long et al. 2023 (1)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (1)	-	-
Zhang et al. 2023 (1)	-	-	-	-	-	-
Chen et al. 2024 (2)	1 (2)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (2)
Total	51 (78)	1 (5)	54 (84)	5 (10)	24 (28)	11 (24)
Total en %	65.4	20.0	64.3	50.0	85.7	45.8

Tableau 6 : Mortalité selon l'activité des transaminases (augmentée ou normale) et la valeur de lactatémie (inférieure ou supérieure à 5 mmol/L).

ASAT : Aspartate aminotransférase, ALAT : Alanine aminotransférase

Ce tableau a pour but de décrire plus en détail la relation entre ces critères spécifiques et la mortalité, bien qu'une corrélation ne soit pas prouvée. Notons que 65.4 % des patients présentant une augmentation de l'activité des ASAT et 64.3 % présentant une augmentation d'activité des ALAT sont décédés. En comparaison, les cas qui présentent des niveaux d'activité des ASAT et des ALAT dans l'intervalle de référence sont beaucoup moins nombreux (respectivement 5 et 10), rendant l'interprétation de la mortalité associée limitée. Concernant les lactates, 85.7 % des patients présentant une lactatémie supérieure à 5 mmol/L au moment (ou proche) de l'observation des GGD sont décédés alors que seulement 45.8 % des patients sont décédés dans le cas contraire.

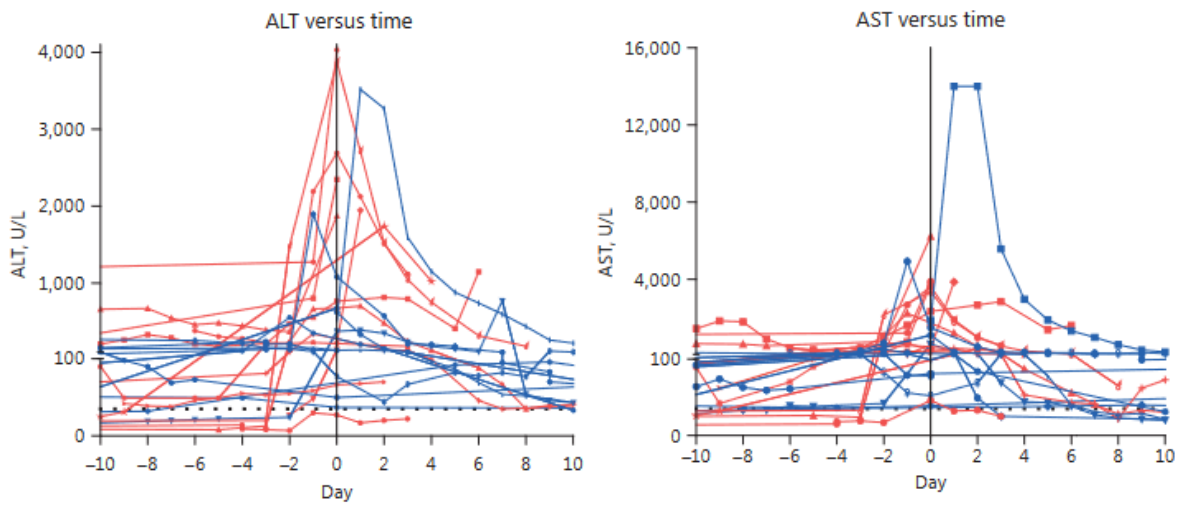
Pour conclure sur ces trois variables, quelques études présentent des résultats sur la cinétique de l'activité des transaminases hépatiques et des lactates (Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017; Cantu et al. 2020; Jiang et al. 2023; Chen et al. 2024). Cela constitue un avantage dont nous ne pouvons généralement pas profiter en médecine vétérinaire pour des raisons de coûts trop importants. Les résultats de trois de ces études sont présentés ci-après.



Graphique 1 : Cinétique de la mesure de l'activité plasmatique des ALAT chez 20 patients pour lesquels des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » ont été détectées sur le frottis sanguin (Hodgson et al. 2015).

La zone grisée correspond à l'intervalle de référence. La ligne verticale verte représente le moment de l'observation des GGD. En bleu : patients ayant survécu. En rouge : patients décédés.

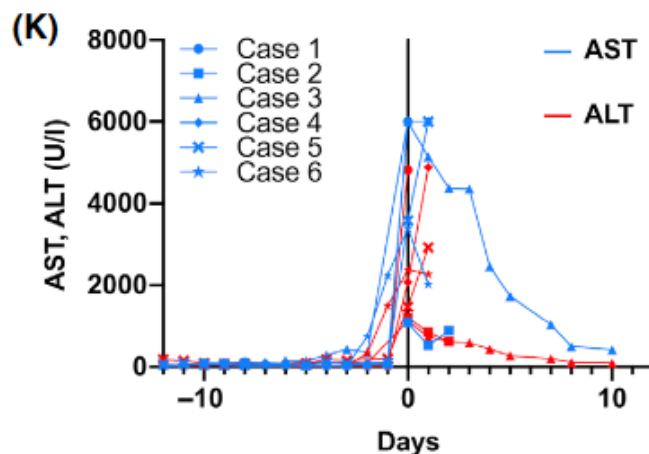
Le Graphique 1 met en évidence que la plupart des pics d'activité plasmatique des ALAT apparaît dans les 24 heures précédant ou suivant la détection des GGD.



Graphique 2 : Cinétique de l'activité plasmatique des ALAT (graphique de gauche) et d'ASAT (graphique de droite) chez 25 patients pour lesquels des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » ont été détectées sur le frottis sanguin (Patel et al. 2017).

Le jour 0 (Day 0) correspond au jour de détection des GGD. Les lignes pointillées bleues correspondent à la borne supérieure de l'intervalle de référence. En bleu : patients ayant survécu. En rouge : patients décédés.

De la même manière, on observe dans le Graphique 2 que le pic d'activité plasmatique des ASAT et ALAT apparaît dans les 48 heures précédant ou suivant l'observation des GGD.

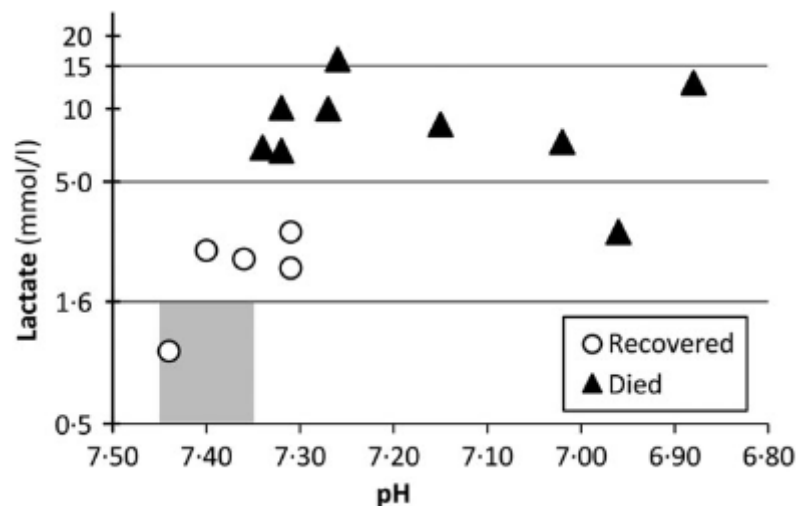


Graphique 3 : Cinétique de la mesure de l'activité plasmatique des ALAT (en rouge) et des ASAT (en bleu) chez 6 patients pour lesquels des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » ont été détectées sur le frottis sanguin (Cantu et al. 2020).

Le jour 0 correspond au jour de détection des GGD. Les 6 patients sont décédés.

Ces 3 graphiques (Graphiques 1, 2 et 3) montrent que l'augmentation maximale de l'activité des transaminases hépatiques est centrée autour de l'apparition des GGD dans la plupart des cas étudiés.

Concernant la lactatémie, un premier graphique (Graphique 4) présente les valeurs de lactatémie obtenues en fonction du pH pour 14 patients présentant des GGD sur le frottis sanguin, et de la survie ou non de ces derniers.

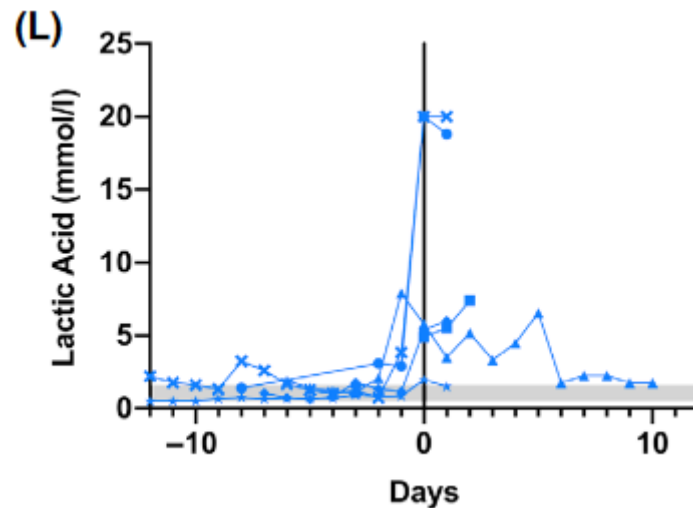


Graphique 4 : Valeurs de lactatémie artérielle en fonction du pH artériel chez 14 patients avant ou au moment de la détection d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin (Hodgson et al. 2015).

La zone grise correspond au croisement des intervalles de référence pour les lactates et le pH.

On remarque sur ce graphique que tous les patients ayant présenté une lactatémie supérieure à 5 mmol/L sont décédés. De plus, ils présentaient tous une acidémie. Inversement, tous les patients ayant survécu ont présenté des valeurs de lactatémie augmentées mais restant inférieures à 5 mmol/L, sauf un qui présentait une lactatémie dans l'intervalle de référence. De plus, 3 des 5 survivants présentaient des valeurs de pH dans l'intervalle de référence.

Enfin, le Graphique 5 présente une étude cinétique des valeurs de lactatémie avant et après la détection de GGD chez 6 autres patients.



Graphique 5 : Cinétique de la lactatémie chez 6 patients présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin (Cantu et al. 2020).

Le jour 0 correspond au jour de détection des GGD. La zone grise correspond à l'intervalle de référence des lactates. Les 6 patients sont décédés.

Notons ici que la plupart des patients présentent une augmentation importante de la lactatémie au moment ou peu de temps avant la détection des GGD.

Pour conclure, les GGD semblent apparaître chez des patients présentant fréquemment des lésions hépatocellulaires surtout caractérisées par une augmentation de l'activité des transaminases hépatiques et notamment aux alentours de leur pic d'intensité. Une lactatémie au-delà de 5 mmol/L semble être un indicateur potentiel de gravité dans le cadre de leur détection, et ainsi de mauvais pronostic.

II - Données bibliographiques disponibles en médecine vétérinaire

La seule étude disponible en médecine vétérinaire a été publiée très récemment en 2024, et concerne uniquement des chiens (Sebastian et al. 2024). C'est à cette étude que nous ferons référence dans toute cette partie.

1. Description de la méthodologie de l'étude

L'étude présente onze chiens au total. Sept d'entre eux ont été inclus prospectivement sur la base de l'observation d'inclusions bleu-vert similaires à celles observées en médecine humaine sur le frottis sanguin.

Dans un second temps, quatre cas additionnels ont été ajoutés rétrospectivement. Ces derniers ont été sélectionnés sur une période de 3 ans, et selon les critères d'inclusion suivants :

- augmentation de l'activité enzymatique des ALAT au bilan biochimique ;
- diagnostic clinique ou post-mortem de dommages hépatocellulaires ;
- présence d'inclusions bleu-vert sur le frottis sanguin après relecture de celui-ci.

Ce choix a été fait dans le but de potentiellement augmenter les chances d'observer des inclusions selon les auteurs, puisqu'ils ont noté la présence de lésions hépatocellulaires chez la totalité des cas prospectifs.

2. Caractérisation des inclusions de type GGD

2.1. Microscopie optique

Les inclusions ont un aspect hétérogène que ce soit au niveau de leur couleur au Wright Giemsa (entre bleu et vert) ou au niveau de leur forme (granules uniques, grappes irrégulières de granules, granules plus grossiers issus de l'accumulation de plus petites inclusions). Cette répartition irrégulière et parfois grossière a rendu le comptage de granules distincts (sous-granules) imprécis, leur nombre par leucocyte variant de 1 à plus de 30. Les granules individuels sont généralement compacts, mais certains sont annulaires avec des bords lisses et un centre non coloré (voir Figure 12). Ces caractéristiques sont similaires à celles observées en médecine humaine.

Les inclusions observées étaient présentes dans moins de 1% jusqu'à 3% des neutrophiles des 11 chiens mais aussi dans les monocytes de 4 chiens (rares). Elles étaient plus facilement détectables en queue de frottis surtout quand les leucocytes étaient peu nombreux.

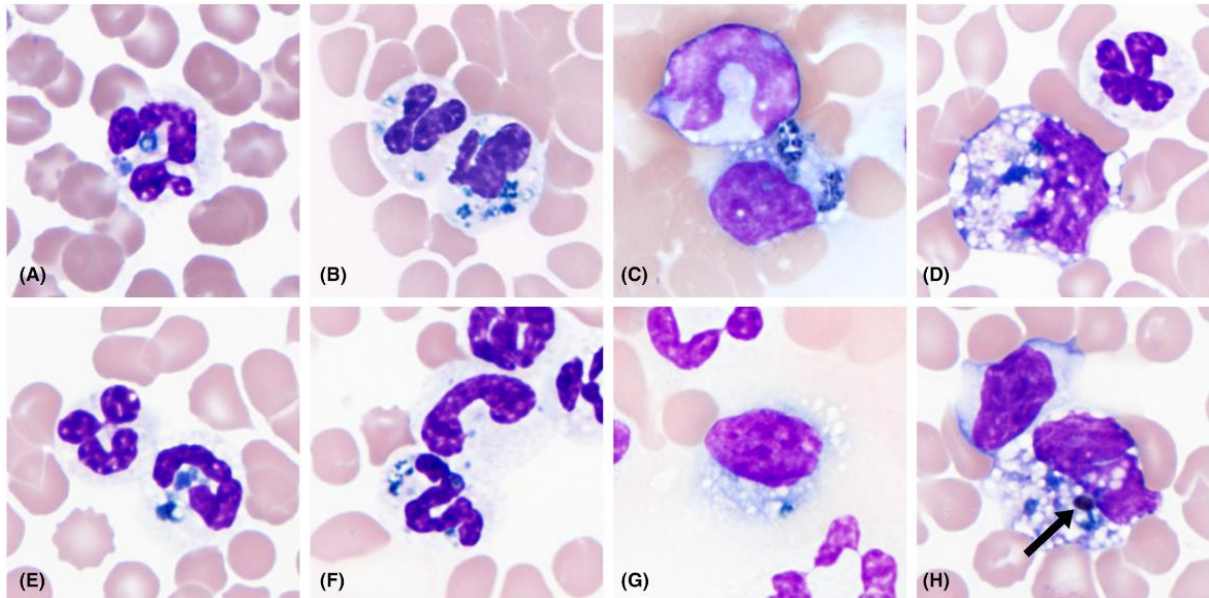


Figure 12 : Inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » dans des neutrophiles (A, B, E, F) et des monocytes (C, D, G, H) sur des frottis sanguins de chiens (Sebastian et al. 2024).

F : les inclusions dans le neutrophile du bas contrastent avec l'apparence des corps de Döhle présents dans le neutrophile juste au-dessus. *H* : les flèches pointent une inclusion plus dense et sombre qui semble correspondre à de l'hémossidérine. Coloration Wright-Giemsa modifiée, objectif x100.

2.2. Colorations spécifiques

La seule coloration spécifique qui a été testée dans cette étude est le Bleu de Prusse, mettant en évidence le fer. Elle a été réalisée sur des frottis non colorés de 5 chiens parmi cas prospectifs (témoin positif : tissu hépatique contenant une forte concentration de fer, témoin négatif : frottis sanguin sans inclusion identifiée).

Cette coloration a montré un résultat négatif (inclusions marron clair, voir Figure 13). Ce résultat a été confirmé par une évaluation des mêmes cellules avec une coloration de Wright-Giemsa modifiée. De la même manière qu'en médecine humaine, la coloration au bleu de Prusse ne permet pas de mettre en évidence les inclusions de type GGD dans cette étude.

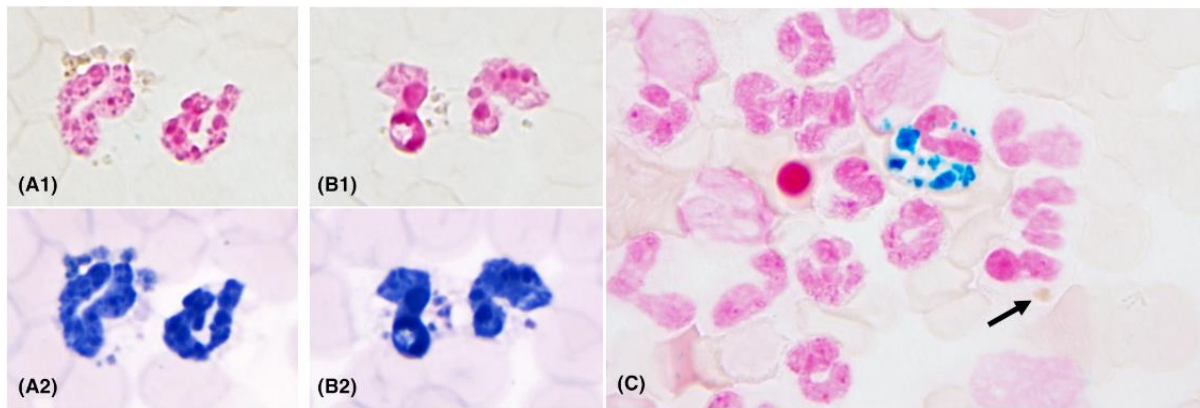


Figure 13 : Coloration au bleu de Prusse négative d'inclusions « lipofuscin-like » dans des neutrophiles canins (Sebastian et al. 2024).

A1, B1 : neutrophiles de deux chiens montrant la négativité au bleu de Prusse des inclusions brunes. A2, B2 : aspect des mêmes inclusions après recoloration au Wright-Giemsa modifié. C : positivité des granulations d'un sidéroleucocyte au bleu de Prusse juxtaposé à une inclusion neutrophile non colorée de type lipofuscine (flèche).

2.3. Autofluorescence

Les frottis non colorés des 5 chiens parmi les cas prospectifs ont également permis d'évaluer le caractère autofluorescent des inclusions dans leurs neutrophiles (témoin positif : préparations cytologiques non colorées d'hépatocytes contenant de la lipofuscine). Les plages de longueurs d'ondes d'excitation utilisées étaient 400-450 nm, 500-550 nm, 550-600 nm.

Pour les 5 chiens, les inclusions étaient positives à l'autofluorescence sur les trois intervalles de longueur d'onde testés (en comparaison avec la lipofuscine trouvée dans des hépatocytes d'un chien sain) (voir Figure 14).

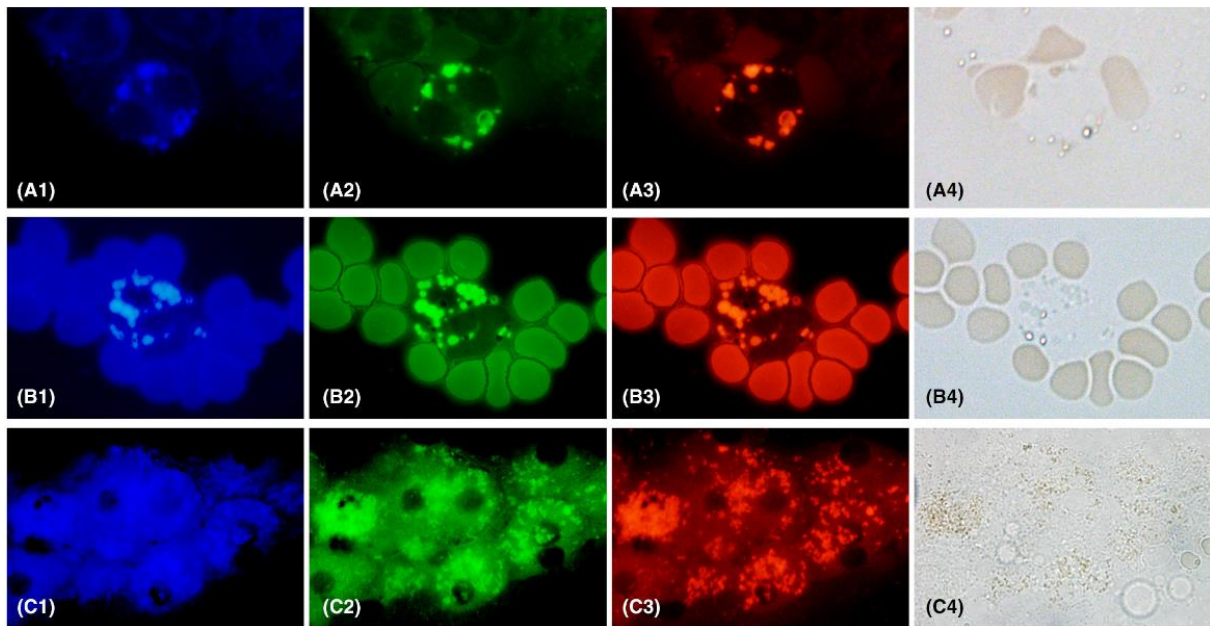


Figure 14 : Autofluorescence à large spectre en faveur de lipofuscine. Toutes les cellules d'une rangée sont les mêmes (Sebastian et al. 2024).

Rangées A et B : leucocytes d'un chien. Rangée C : témoin positif sur un amas d'hépatocytes provenant d'un autre chien. A1, B1, C1 : excitation à 400-450 nm. A2, B2, C2 : excitation à 500-550 nm. A3, B3, C3 : excitation à 550-600 nm. A4, B4, C4 : aspect non coloré des mêmes cellules, sans excitation. Observation au microscope à fluorescence, objectif 100x pour les spécimens sanguins et objectif 40x pour le spécimen de foie.

Cette positivité était, pour les auteurs, en faveur de lipofuscine et non de « *lipofuscin-like* » comme décrit en médecine humaine. L'absence du caractère autofluorescent en médecine humaine pourrait être d'après eux expliquée par la coloration des lames, procédé qui serait susceptible de supprimer la capacité d'autofluorescence de la lipofuscine (proposition seulement hypothétique de la part des auteurs de cette étude).

3. Description des données clinico-pathologiques et diagnostiques

3.1. Variables hématologiques et biochimiques

9 chiens parmi 11 ont présenté une leucocytose modérée à marquée caractérisée par une neutrophilie et une courbe d'Arneth déviée à gauche, et parmi eux, 3 chiens présentaient aussi une monocytose modérée à marquée et 6 chiens présentaient des neutrophiles toxiques.

Les 2 autres chiens n'ont présenté aucune anomalie, que ce soit au niveau des valeurs de la numération formule ou au niveau du frottis.

Tous les chiens présentaient une augmentation de l'activité des transaminases hépatiques (ce qui était un critère d'inclusion dans l'étude pour les cas rétrospectifs). De plus, une augmentation de l'activité des PAL (11/11), une hyperbilirubinémie conjuguée (10/11) et une hyperlactatémie veineuse (5/9) ont également pu être constatées. Les 5 chiens présentant une hyperlactatémie sont décédés dans les jours qui suivaient (1-7 jours).

Enfin, les auteurs remarquent que pour les cas ayant subi plusieurs analyses sanguines au cours de l'hospitalisation, les inclusions semblaient être présentes dans les frottis sanguins au moment où l'activité des ALAT était la plus importante. Cependant, une corrélation entre le pourcentage d'augmentation de l'activité des ALAT et la mortalité n'a pas été démontrée car l'un des trois chiens ayant survécu est celui qui en a présenté la plus grande valeur. De même, aucune corrélation entre le pourcentage de cellules contenant des GGD et la mortalité ou l'activité des ALAT n'a pu être démontrée.

Au niveau des temps de coagulation, le TQ et le TCA n'étaient pas systématiquement augmentés (7/9 et 5/9 respectivement). Les produits de dégradation de la fibrine (PDF), l'antithrombine III (ATIII) et le fibrinogène n'ont été mesurés que sur 2 chiens. L'un d'eux avait une hypofibrinogénémie, une baisse d'activité de l'ATIII et une thrombocytopenie, et les deux chiens présentaient des PDF augmentés.

3.2. Données diagnostiques et issues cliniques

Parmi les 11 chiens de l'étude, 8 ont été associés à des maladies hépatiques d'origine diverses (cholangiohépatite, insuffisance hépatique aiguë, carcinome métastatique) et 4 ont été associés à un diagnostic de pancréatite (parfois les deux). Deux chiens ont été suspects de sepsis et sont morts moins de 24 heures après leur admission. Au total, 73% (8/11) des chiens sont décédés, dans les sept jours suivant l'admission (médiane = 1 jour). La mortalité à partir de l'observation des GGD n'est pas calculable car il n'y a pas d'information sur le moment de leur détection.

Une autopsie réalisée chez deux des chiens a révélé une nécrose hépatique subaiguë chez les deux sujets. L'autopsie a également mis en évidence une endocardite fibrinosuppurative et une nécrose pancréatique pour l'un, et une dégénérescence tubulaire aiguë avec pigmentation des néphrons et rhinite fibrinosuppurative pour l'autre.

Enfin, des cytologies hépatiques réalisées sur 4 chiens ont mis en évidence des signes de cholestase (2/4), de « carcinome » avec nécrose et inflammation neutrophilique (1/4) ou de prolifération hépatocytaire n'excluant pas une maladie néoplasique (1/4).

4. Limites et ouverture

Dans cette étude, l'un des critères d'inclusion pour les animaux sélectionnés rétrospectivement était la présence avérée de lésions hépatocellulaires. De fait, ce choix entraîne un biais de sélection : si l'ensemble des chiens avait été sélectionné de la même manière que le groupe prospectif, des inclusions de type GGD auraient potentiellement pu être observées chez des chiens ne présentant pas de lésions hépatocellulaires. Pour cette raison, l'interprétation des variables biochimiques reste limitée et une généralisation des résultats diagnostiques (taux de mortalité, prévalence) est difficilement envisageable. De même, cette étude ne permet pas de confirmer l'origine des inclusions puisqu'elle a été menée chez des patients tous atteints d'un seul et même type de lésions.

Ces critères ont peut-être augmenté les probabilités d'observer des GGD puisqu'en médecine humaine, il semble qu'elles soient fortement associées à des lésions hépatiques. Les auteurs ont pu caractériser la morphologie et le caractère autofluorescent des GGD et les comparer aux données de la médecine humaine. Le but n'était donc pas d'évaluer l'ensemble des affections pour lesquelles de telles inclusions auraient pu être observées.

Cette étude est la seule disponible en médecine vétérinaire au sujet des inclusions de type GGD et se focalise uniquement sur des chiens. Ainsi, aucune donnée n'est disponible chez le chat. Il est donc légitime de se demander si les chats sont aussi concernés par une telle découverte sur le frottis sanguin, et si, comme en médecine humaine, leur présence fait suite à des lésions hépatiques.

A la lumière de ces données et de ces questionnements, nous avons réalisé notre propre étude sur ce sujet. Les objectifs sont multiples :

- documenter avec précision les cas de chiens et de chats ayant présenté des inclusions bleu-vert de type GGD à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT), en sélectionnant les cas uniquement sur la base de leur détection sur le frottis sanguin en décrivant le plus précisément possible les données clinico-pathologiques des animaux présentant cette anomalie ;
- préciser le possible impact pronostic de la présence de GGD sur le frottis sanguin chez le chien et le chat.

PARTIE 2 : Etude rétrospective et prospective

I - Matériel et méthodes

Cette étude a débuté en Avril 2023. Elle comprend une partie rétrospective, constituée de cas vus au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire des Animaux de Compagnie (CHUVAC) de l'ENVT avant cette date, et une partie prospective constituée de cas vus ultérieurement, jusqu'en Novembre 2024.

1. Acquisition des données à partir des logiciels Clovis et Sirius

Dans le cadre de notre étude, les bases de données des logiciels Clovis et Sirius ont été utilisées. Il s'agit de logiciels de gestion de la clientèle utilisés pour les activités cliniques (comptes-rendus, résultats d'analyses, prescriptions médicales, ...) ainsi que pour la gestion financière au CHUVAC de l'ENVT.

Le logiciel Clovis a été remplacé le 25 Août 2023 par le logiciel Sirius. De fait, les données issues des cas répertoriés après cette date ont été extraites depuis Sirius, et toutes les données issues de cas répertoriés antérieurement ont été extraits depuis Clovis.

2. Définition de la population d'étude

2.1. Sélection des cas rétrospectifs

Afin de sélectionner tous les cas rétrospectifs de cette étude, une première phase de tri des cas d'intérêt archivés au CHUVAC depuis l'implantation du logiciel Clovis jusqu'à sa clôture (de Janvier 2001 à Août 2023) et de l'ensemble des cas répertoriés sur le logiciel Sirius (de Août 2023 à Avril 2023) a été réalisée. Pour ce faire, les mots-clés suivants ont été recherchés dans les sections « Conclusion examen » et « Description examen » (Recherche > Examens Complémentaires > Description examen/conclusion examen) de Clovis et la section « corps du compte-rendu » (Recherche fiche de visite > Recherche avancée > Compte-rendu > Corps du

compte-rendu) de Sirius : inclusion, green, granule, death, verdâtre, granulation, bleu, vert.

Cette recherche a permis de mettre en évidence toutes les fiches de consultation qui faisaient mention de ces termes. Ces fiches ont ensuite été relues et triées pour ne garder que les consultations qui contenaient l'observation d'inclusions évocatrices de GGD.

2.1.1. Critères d'exclusion

Une fois cette phase de tri effectuée, une recherche dans les archives du laboratoire central de l'ENVT a été réalisée pour procéder à une relecture des frottis sanguins de chaque animal sélectionné. La coloration de May-Grünwald Giemsa (MGG) est utilisée en routine au laboratoire.

Les animaux dont le frottis sanguin n'avait pas été conservé ont été exclus de l'étude. Il est donc à noter que seuls les cas vus à partir de 2021 ont été retenus, les frottis sanguins réalisés antérieurement n'étant plus archivés. Les animaux dont la lecture du frottis sanguin avait eu lieu sans passage en automate ont également été exclus. Les animaux dont les inclusions mentionnées dans les fiches de consultation n'avaient pas été retrouvées lors de la relecture du frottis sanguin ont été exclus.

2.1.2. Critères d'inclusion

Lors de la relecture des frottis sanguins, tous les cas ayant présenté des inclusions bleu-vert aux caractéristiques morphologiques similaires aux GGD observées en médecine humaine et en médecine vétérinaire ont été sélectionnés. Les caractéristiques d'intérêt concernent la forme, la taille, le nombre, la répartition et la coloration des inclusions.

Ensuite, ces cas qui présentaient des inclusions morphologiquement similaires aux GGD ont été testés à l'autofluorescence. Ceci a été réalisé à l'aide d'un microscope optique Axio Imager Z2 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Allemagne), afin de confirmer la nature de l'inclusion (lipofuscine vs. « *lipofuscin-like* »). Les photos ont été prises à l'aide du logiciel CytoVision (Leica Biosystems, Nussloch, Allemagne). Pour ce faire, au moins une inclusion évocatrice de GGD préalablement observée en

microscopie optique a été localisée pour chaque animal en notant ses coordonnées sur le frottis coloré. Ensuite, chaque frottis coloré a été soumis au microscope à autofluorescence qui dispose de trois longueurs d'ondes d'excitation différentes : 305 nm, 488 nm et 594 nm.

Dans la littérature scientifique, le maximum d'autofluorescence pour la lipofuscine est observé à des longueurs d'onde d'excitation variant de 325 nm à 380 nm (Yin 1996). Les témoins positifs correspondaient à des préparations cytologiques d'hépatocytes de chien et de chat colorés au MGG, contenant de la lipofuscine. Toutes les inclusions correspondant à des pigments de lipofuscine dans les hépatocytes de chien et de chat ont présenté une autofluorescence pour les longueurs d'ondes de 305 nm, 488 nm et, à de rares exceptions près, à 594 nm. Un exemple de résultat positif pour les 3 longueurs d'ondes d'excitation dans des hépatocytes de chat est montré dans la Figure 15. Un exemple de résultat positif pour 305 nm dans des hépatocytes de chien est montré dans la Figure 16.

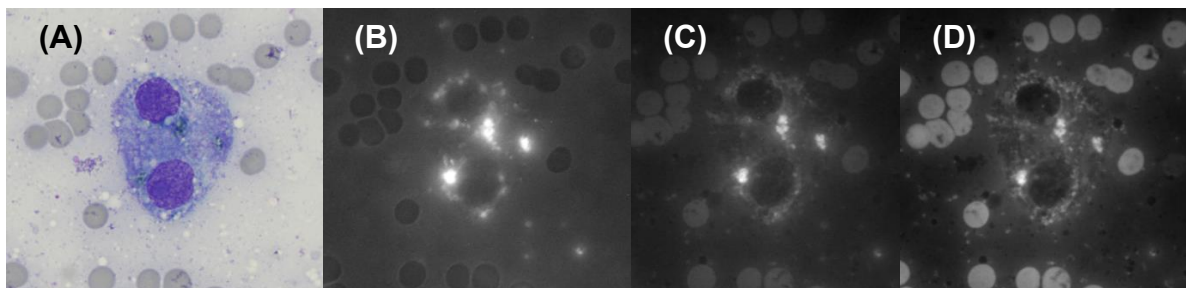


Figure 15 : Résultats d'autofluorescence de lipofuscine contenue dans des hépatocytes de chat. *A : observation microscopique de 2 hépatocytes colorés au MGG. B, C, D : observation au microscope à fluorescence des mêmes hépatocytes aux longueurs d'onde d'excitation 305 nm (B), 488 nm (C) et 594 nm (D). Grossissement x1000.*

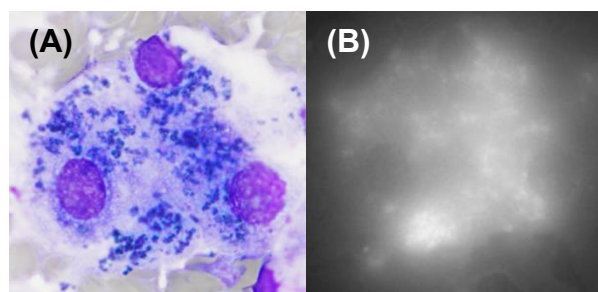


Figure 16 : Résultats d'autofluorescence de lipofuscine contenue dans des hépatocytes de chien. *A : observation microscopique de 2 hépatocytes colorés au MGG. B : observation au microscope à fluorescence des mêmes hépatocytes aux longueurs d'onde d'excitation 305 nm. Grossissement x1000.*

Les témoins négatifs étaient un frottis de chien coloré au MGG et des préparations cytologiques colorées au MGG de rate et d'épanchement péricardique de chien, de l'hémossidérine ayant été observée sur ces préparations (voir Figure 17). Aucune des 3 longueurs d'ondes d'excitation n'a permis d'observer d'autofluorescence pour ces pigments évocateurs d'hémossidérine. Un exemple de résultat d'autofluorescence pour la rate est présenté dans la Figure 18.

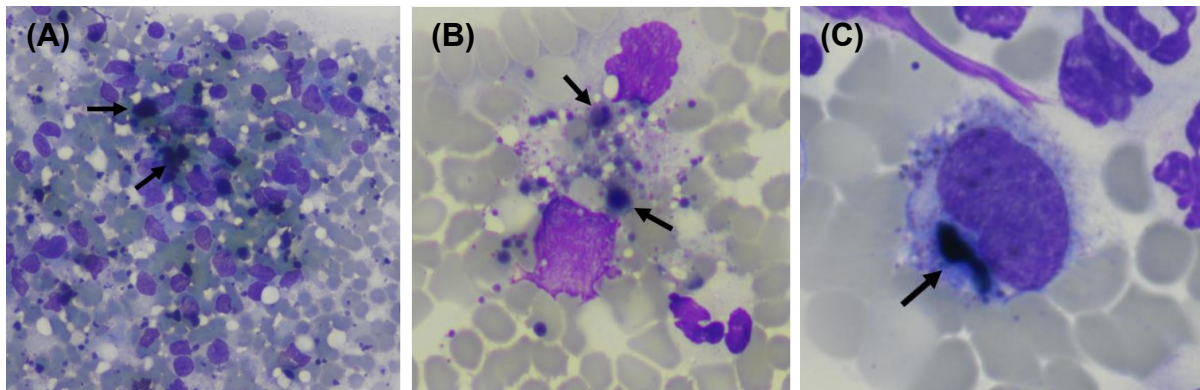


Figure 17 : Aspect de l'hémossidérine (flèches noires) sur des préparations cytologiques colorées au MGG de rate (A) et d'épanchement péricardique (B) de chien et sur un frottis sanguin de chien coloré au MGG (C).

Observation au microscope optique grossissement x500 (A et B) et grossissement x1000 (C).

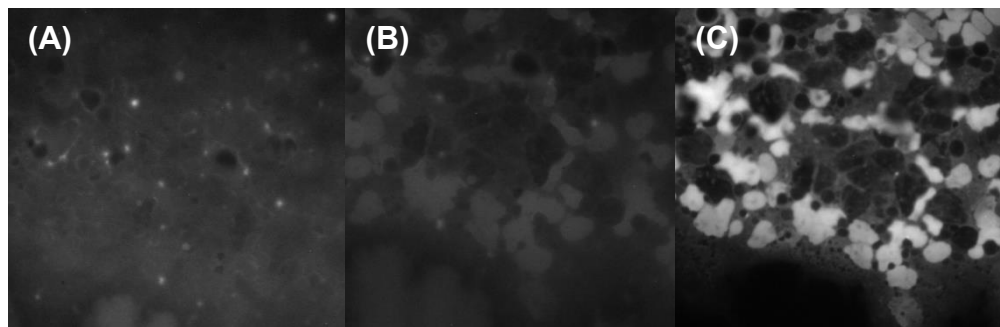


Figure 18 : Résultats d'autofluorescence négatifs sur une préparation cytologique de rate de chien contenant de l'hémossidérine.

Longueurs d'onde d'excitation de 305 nm (A), 488 nm (B) et 594 nm (C). Cette section ne correspond pas à celle observée dans la Figure 17. Grossissement x500.

Sur la base des témoins positifs, tous les cas qui ont présenté un résultat d'autofluorescence positif à 305 nm ont été inclus dans l'étude. Les autres cas, soit 6 animaux du groupe rétrospectif, ont été exclus. 2 exemples de résultats d'autofluorescence positifs pour les 3 longueurs d'ondes d'excitation sont présentés dans les Figures 19 (chat) et 20 (chien).

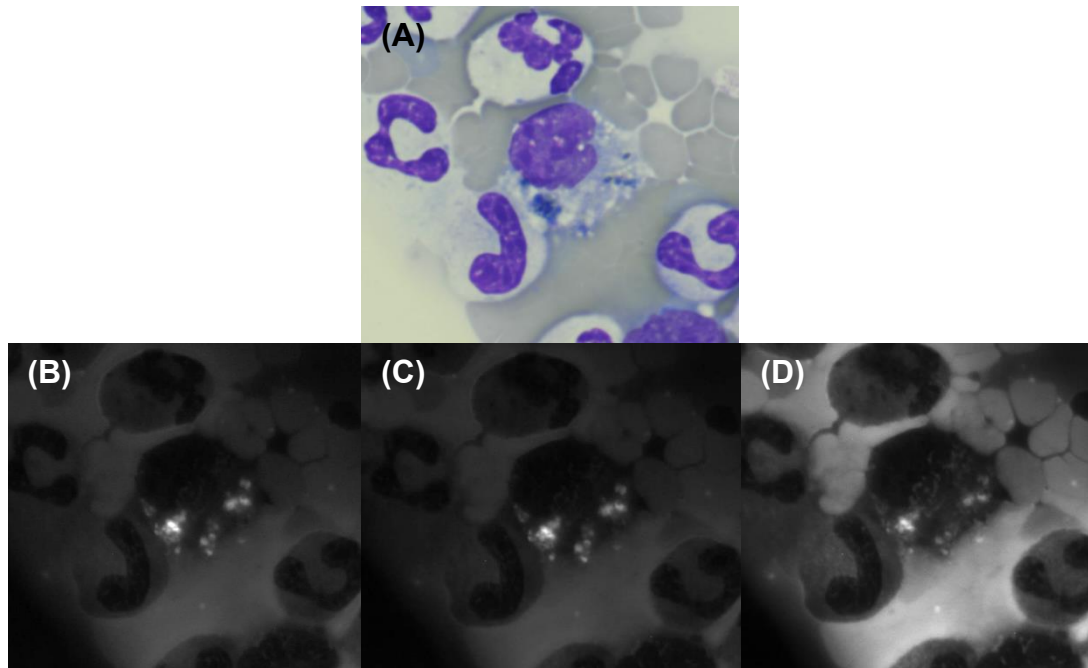


Figure 19 : Résultats d'autofluorescence d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » observées sur le frottis sanguin d'un chat.

A : observation au microscope optique d'un monocyte contenant les GGD. Images du bas : longueurs d'onde d'excitation de 305 nm (B), 488 nm (C) et 594 nm (D) (résultats positifs). Grossissement x1000.

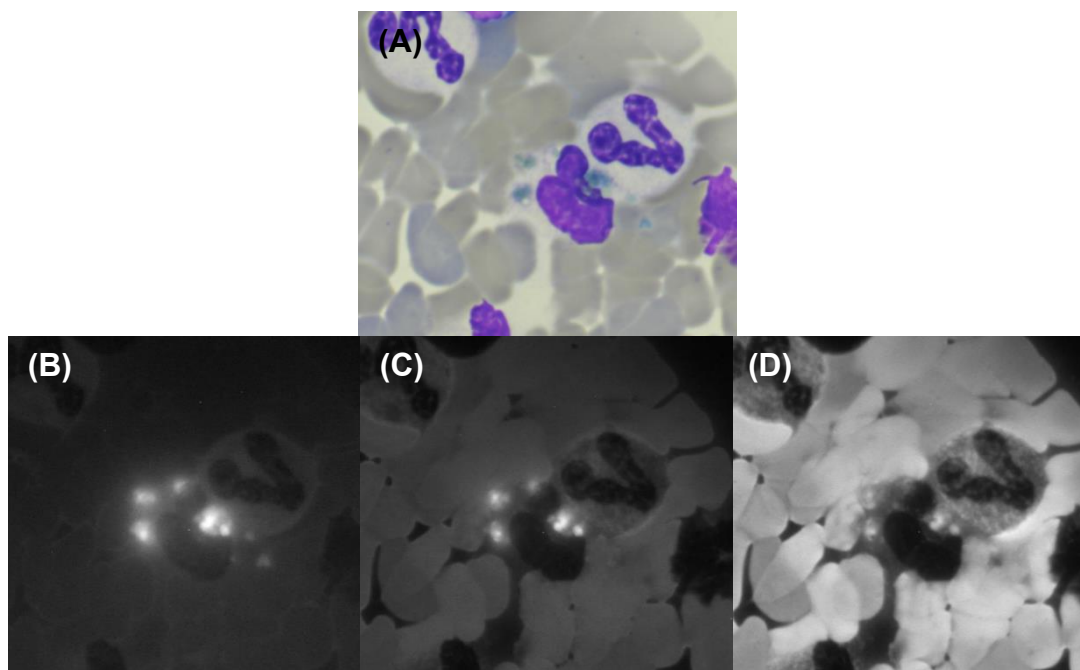


Figure 20 : Résultats d'autofluorescence d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » observées sur le frottis sanguin d'un chien.

A : observation au microscope optique d'un neutrophile contenant les GGD. Images du bas : longueurs d'onde d'excitation de 305 nm (B), 488 nm (C) et 594 nm (D) (résultats positifs). Grossissement x1000.

2.2. Sélection des cas prospectifs

2.2.1. Critères d'inclusion

Les inclusions évocatrices de GGD ont été détectées prospectivement à partir de Mai 2023 jusqu'en Novembre 2024 directement à partir de leur observation sur les frottis sanguins de chiens et de chats lors du diagnostic au laboratoire central du CHUVAC. Tous les cas qui ont présenté des inclusions aux caractéristiques morphologiques (taille, forme, nombre, répartition et coloration) similaires aux GGD observées en médecine humaine et en médecine vétérinaire ont été sélectionnés.

Ensuite, de la même manière que pour les cas rétrospectifs, un test à l'autofluorescence a été effectué. Tous les cas qui ont présenté un résultat positif à 305 nm ont été inclus dans l'étude.

3. Données étudiées

3.1. Informations concernant l'animal

Les informations concernant l'identification des cas de cette étude ont été renseignées dans un tableau pour les chats et pour les chiens (Annexes 1 et 2). Le détail de leur contenu est présenté dans les paragraphes ci-dessous.

3.1.1. Anamnèse et commémoratifs

Les informations suivantes concernant l'anamnèse et les commémoratifs de chaque cas ont été renseignées :

- race de l'animal ;
- sexe et statut physiologique ;
- âge en années au moment de l'observation des GGD ;
- motif(s) d'admission explicité(s) dans les comptes-rendus des consultations ;
- antécédents d'intérêt.

3.1.2. Présentation clinique de l'animal, diagnostic et issue clinique

Les informations suivantes concernant la présentation clinique, le diagnostic et l'issue clinique de chaque cas ont été renseignées :

- Présence d'un Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique (SRIS) : les données permettant de déterminer la présence ou l'absence d'un SRIS sont récoltées au plus proche de l'hémogramme ayant mis en évidence les GGD. Les critères définissant le SRIS sont ceux présentés dans le Tableau 7 ci-dessous :

	Chien	Chat
Température corporelle (°C)	37.2 < <39.2	37.8 < <39.7
Fréquence cardiaque (bpm)	>140	140 < <225
Fréquence respiratoire (mpm)	>40	>40
Numération leucocytaire (10 ⁹ /L)	5.0 < <19.5 ou >5% de band cells	5.0 < <19.5 ou >5% de band cells

Tableau 7 : Critères retenus pour définir un SRIS chez le chat et chez le chien (Textbook of Veterinary Internal Medicine, 2024).

La présence d'au moins deux de ces critères suffit pour classer l'animal en SRIS.

- Diagnostic final : décrit le « diagnostic » qui a été établi à l'issue de la consultation d'intérêt ou lors des consultations de suivi de l'animal.
- Issue clinique : indique si l'animal est décédé ou non. Si c'est le cas, le nombre de jour(s) entre l'observation des GGD et la mort de l'animal (en hospitalisation ou hors du CHUVAC) est noté. Ce résultat est un entier arrondi par défaut (par exemple, si l'animal est décédé moins de 24 heures après la détection des GGD sur son frottis sanguin, « jour 0 » est noté). La raison du décès est précisée. Sinon, la mention « vivant » est notée.

3.2. Réalisation des examens de laboratoire

3.2.1. Protocole de réalisation d'un hémogramme et d'un frottis sanguin

Un hémogramme est réalisé à partir d'un tube Acide Ethylène Diamine Tétracétique (EDTA) (rempli par du sang périphérique prélevé lors de la consultation ou au cours de l'hospitalisation au CHUVAC). Les prélèvements présentant un caillot macroscopique sont exclus. Selon les cas, l'hémogramme peut être réalisé à l'aide de différents analyseurs, qui ont chacun des intervalles de référence spécifiques. Pour notre étude, on distingue les deux cas de figure suivants :

- l'hémogramme et le frottis sanguin ont été réalisés au laboratoire central du CHUVAC ;
- l'hémogramme et le frottis sanguin ont été réalisés au laboratoire des urgences du CHUVAC (nuit, week-end et jours fériés).

3.2.1.1. Réalisation au laboratoire central du CHUVAC

L'analyseur utilisé est le Sysmex XN-1000V® (Sysmex, Kobe, Japon). Les techniciens réalisent pour chaque animal :

- Un tube capillaire pour la réalisation d'un micro-hématocrite (tube micro-hématocrite ISO12772, Vitrex Medical A/S, Herlev, Danemark). Il est rempli et obturé avec une pâte spécifique (cire d'obturation, Vitrex Medical, Herlev, Danemark). Il est centrifugé et lu à l'aide d'une échelle immédiatement après afin d'obtenir une valeur de micro-hématocrite (%).
- Un frottis sanguin au moyen d'une lame porte objet en verre lavée (Thermo scientific, Menzel-Gläser, lame porte-objet prête à l'emploi, ca/env 76x26mm) sur laquelle est déposée une petite goutte de sang du tube EDTA à l'aide d'une pipette en verre (pipette pasteur en verre à usage unique, C.E.B., Angers, France). Cette goutte est ensuite étalée avec une lame rodée (Menzel-Gläser, lame à bords rodés, LRE, 50x20mm) positionnée à 30°, conformément aux normes C.L.S.I. (Clinical and Laboratory Standard Institute). Le frottis sanguin est ensuite séché à l'air libre par agitation, et est identifié au crayon à papier

par son numéro de laboratoire, l'espèce de l'animal concerné (« CN » pour chien ou « CT » pour chat) et le numéro d'ordre d'hémogramme du jour.

- Le frottis sanguin est coloré au May-Grünwald Giemsa (MGG) par une colorieuse automatique (Aerospray® HematologyPro) et monté (Microm CTM6®, Thermo scientific) avec une lamelle en verre dans l'heure suivant sa réalisation.

3.2.1.2. Réalisation au laboratoire des urgences du CHUVAC

L'hémogramme est réalisé à l'aide de l'automate Procyte Dx® (Idexx Laboratories, Westbrook, Etats-Unis). Un frottis sanguin est réalisé par un étudiant, un interne ou un clinicien de l'ENVT dans les 30 minutes suivant la réalisation du prélèvement sanguin. Le frottis est ensuite identifié et conservé dans une boîte hermétiquement fermée jusqu'à sa coloration au laboratoire central (voir protocole de coloration décrit dans le paragraphe 3.2.1.1). Aucun micro-hématocrite n'est réalisé au laboratoire central.

3.2.2. Traitement des prélèvements des animaux anémiés

Les animaux anémiés sont définis comme ceci : hématocrite inférieur à 35% pour les chiens et hématocrite inférieur à 29% pour les chats.

Dans ces cas-là, un test d'agglutination est systématiquement réalisé afin d'explorer la possibilité d'une composante immune. Il consiste à prélever 20 µL de sang total du tube EDTA préalablement homogénéisé, et de le mettre dans un tube Eppendorf contenant 180 µL de NaCl 0.9%. Le tube Eppendorf est ensuite homogénéisé, et 20 µL du mélange sont prélevés et déposés sur une lame en verre. La lame est observée macroscopiquement et microscopiquement. En cas de présence d'agglutinats d'hématies, le test est considéré comme positif.

De plus, pour les chats uniquement, une coloration au bleu de méthylène nouveau est réalisée afin de compter manuellement les réticulocytes. Pour ce faire, 40 à 50 µL de sang total EDTA sont pipetés, transférés dans un tube à hémolyse et mis en présence d'un même volume de colorant, puis sont placés dans un bain-marie à 37°C pendant 45 minutes. Un frottis à partir de ce mélange est réalisé, comme décrit

précédemment. Les réticulocytes agrégés sont alors comptés parmi 1000 hématies, et ce comptage est ramené à un pourcentage de réticulocytes (%).

3.2.3. Lecture du frottis sanguin

La lecture du frottis est réalisée en routine par un diplômé *European College of Veterinary Clinical Pathology* (ECVCP) ou un assistant hospitalier. Une formule leucocytaire manuelle sur 100 leucocytes est réalisée. Une analyse de la morphologie, de l'organisation ainsi qu'une appréciation semi-quantitative sont effectuées sur les trois populations sanguines (hématies, leucocytes, plaquettes). L'interprétation de l'hémogramme comprend l'analyse des anomalies des résultats chiffrés donnés par l'automate et de celles du frottis sanguin.

La détection d'inclusions de type GGD est validée par un biologiste diplômé ECVCP. Toute inclusion de couleur bleu-vert, légèrement réfringente et de petite à moyenne taille observée dans des neutrophiles et/ou des monocytes est considérée comme une inclusion fortement évocatrice de GGD. Ainsi, tous les frottis sanguins pour lesquels la présence d'inclusions évocatrices de GGD avait été notée rétrospectivement ont été relus par un spécialiste, afin de confirmer la suspicion.

3.2.4. Données hématologiques

Toutes les données relatives à la réalisation des hémogrammes d'intérêt ont été compilées dans trois différents tableaux, à la fois pour les chiens et pour les chats.

Un premier tableau (Annexes 3 et 4) décrit les données brutes issues des hémogrammes et mentionne les intervalles de référence de chaque analyseur utilisé. Les données répertoriées qui s'y trouvent sont détaillées ci-après :

Pour la lignée rouge :

- Numération totale en hématies (RBC-O pour les chats, RBC-I pour les chiens) ($\times 10^6/\mu\text{L}$)
- Hématocrite donnée par l'automate (HCT) (%)
- Hémoglobininémie (HGB) (g/dL)
- Volume globulaire moyen (VGM) (fL)

- Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (pg)
- Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) (g/dL)
- Index de distribution des hématies (IDR) (%)

Pour la lignée leucocytaire :

- Numération leucocytaire totale (WBC) ($\times 10^3/\mu\text{L}$)
- Numération absolue de chaque population de leucocytes à partir de la formule leucocytaire manuelle (NEUT, Band cells, LYMPH, MONO, EOSI, BASO) ($\times 10^3/\mu\text{L}$)

Pour la lignée plaquettaire :

- Numération plaquettaire (pour les chats : PLT-O, pour les chiens : PLT-O pour les analyses du Sysmex XN-1000V® et PLT-I pour les analyses du Procyte Dx® des chiens) ($\times 10^3/\mu\text{L}$)

Un second tableau (Tableaux 8 et 9, voir partie « Résultats ») indique, pour chaque variable, la proportion d'animaux présentant des résultats diminués, augmentés et sans anomalie par rapport aux intervalles de référence. Ce tableau donne aussi à titre indicatif la médiane et les intervalles des facteurs d'augmentation ou de diminution par rapport aux bornes supérieures ou inférieures des intervalles de référence. Cette synthèse permet de comparer les résultats obtenus bien qu'ils soient issus de différents analyseurs avec des intervalles de référence spécifiques.

Un troisième tableau (Annexes 5 et 6) précise les autres données utiles obtenues à partir des hémogrammes :

Pour la lignée rouge :

- Anomalies morphologiques de la lignée rouge détectées sur le frottis sanguin
- Nombre d'érythroblastes comptés manuellement (/100 leucocytes)
- Dans le cas où l'animal est anémié uniquement (cf. définition donnée dans le 2.2.2.) :
 - o Taux corrigé de réticulocytes (T_c) (%) :
 - Pour les chiens : $T_c = [\text{Pourcentage de réticulocytes}] \times [\text{Hématocrite}] / 45$

- Pour les chats : $T_c = \frac{[\text{Pourcentage de réticulocytes}] \times [\text{Hématocrite}]}{37}$
 - Résultat du test d'agglutination
 - Résultat du test de Coombs
 - Résultat du test FIV/FelV pour les chats

Pour la lignée leucocytaire :

- Pourcentage de band cells issu de la formule leucocytaire (%)
- Anomalies morphologiques de la lignée leucocytaire
- Présence ou absence de signes de toxicité dans les neutrophiles
- Type de cellule dans lequel les inclusions de type GGD ont été observées
- Jour de détection des GGD (« 0 » correspondant au jour d'admission)

Pour la lignée plaquettaire :

- Anomalies morphologiques de la lignée plaquettaire
- Présence ou absence d'amas plaquettaires

3.2.5. Données issues des autres examens de laboratoire

Les données issues de la réalisation d'examens complémentaires de laboratoire supplémentaires notamment biochimiques et d'hémostase ont été compilées dans 4 différents tableaux, à la fois pour les chiens et pour les chats.

3.2.5.1. Choix de données

Pour toutes les données qui suivent et pour chaque analyte, la valeur prise en compte dans les tableaux est celle qui a été mesurée au plus près de l'observation des GGD, dans un intervalle de 48 heures précédant ou suivant celle-ci. Si la valeur a été obtenue entre 24 et 48 heures avant ou après la détection des GGD, des astérisques sont placés en exposant. Dans le cas où toutes les valeurs disponibles ont été mesurées à plus de 48 heures de distance de l'observation des GGD, celles-ci ne sont pas prises en compte et la mention « - » est notée. Cette limite de 48 heures a été fixée en regard de la bibliographie afin de garder des valeurs mesurées représentatives de l'état clinique de l'animal au moment où les GGD ont été observés.

Si aucune valeur n'a été mesurée pour un analyte donné, la mention « - » est également notée.

3.2.5.2. Biochimie sanguine

Un premier tableau (Annexes 7 et 8) décrit les données brutes issues des analyses biochimiques et mentionne les intervalles de référence de chaque analyseur utilisé. Les examens biochimiques sont réalisés soit :

- au laboratoire central du CHUVAC à l'aide :
 - o du Vitros XT3400® (Ortho clinical diagnosticsn QuidelOrtho Corporation, San Diego, Etats-Unis) pour les analyses biochimiques de routine
 - o du Cubevet Eurolyser® (Scil animal care company, Altorf, France) pour la protéine C-réactive (CRP) et la protéine sérique amyloïde A (SAA)
- au laboratoire des urgences du CHUVAC (nuit, week-end et jour férié) à l'aide du Catalyst One® (Idexx Laboratories, Westbrook, Etat-Unis)

Les variables biochimiques étudiées sont détaillées ci-après :

Sur plasma hépariné (Vitros XT3400® et Catalyst One®) :

- ALAT, ASAT, PAL, GGT, et créatine kinase (CK) en U/L
- Bilirubine totale (BIL), créatinine (CREA) et NH₃ en µmol/L
- Protéines totales (PT), albumine (ALB) en g/L
- Rapport albumine/globuline (A/G)
- Urée, glucose (GLU), phosphates (P), calcium total (Ca), magnésium total (Mg), cholestérol (CHOL) et triglycérides (TRIG) en mmol/L

Sur sérum (Cubevet Eurolyser®) ou plasma hépariné (Catalyst One®) pour les chiens :

- CRP en mg/L

Sur sérum (Cubevet Eurolyser®) pour les chats :

- SAA en mg/L

3.2.5.3. Ionogramme, lactatémie et gaz sanguins

Un second tableau (Annexes 9 et 10) décrit les données brutes issues des ionogrammes, des mesures de lactatémie et des examens de gazométrie sanguine et mentionne les intervalles de référence de chaque analyseur utilisé.

Plusieurs appareils ont permis la mesure des électrolytes chez nos animaux (plasma hépariné) :

- Vitros XT3400®
- Catalyst One®
- Stat Profile Prime®VET (Nova Biomedical Corporation, Waltham, Etats-Unis)
- VetStat® (Idexx Laboratories, Westbrook, Etats-Unis)

La mesure de la lactatémie est réalisée à l'aide soit :

- d'un analyseur portatif sur sang total : THE EDGE Lactate analyzer™ (KITVIA)
- du Stat Profile Prime®VET (Nova Biomedical)

Les valeurs-seuils d'hyperlactatémie utilisées dans notre étude ont été fixées par les spécialistes *European College of Veterinary Emergency and Critical Care* (ECVECC) de l'ENVT d'après des références : 2 mmol/L pour les chats (Mary M. Christopher Dvm, PhD, O'Neill 2000; Rand et al. 2002) et 2,5 mmol/L pour les chiens (Hughes et al. 1999; McMichael et al. 2005).

Les gaz sanguins sont obtenus avec le VetStat® et le Stat Profile Prime®VET sur sang total hépariné.

Les variables étudiées sont détaillées ci-après :

- Pour l'ionogramme : Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺ en mmol/L
- Lactates en mmol/L
- Pour les gaz sanguins : pH, excès de base (BE) et HCO₃⁻ en mmol/L, pressions partielles en CO₂ (pCO₂) et en O₂ (pO₂) en mmHg

3.2.5.4. Bilan de coagulation

Un troisième tableau (Annexes 11 et 12) décrit les données brutes issues des bilans de coagulation et mentionne les intervalles de référence de chaque analyseur utilisé.

Lorsque l'analyse est réalisée au laboratoire des urgences du CHUVAC, l'analyseur est le Coag Dx[®] (Idexx Laboratories, Westbrook, Etats-Unis) et utilise du sang total citraté. Il mesure seulement le TQ et le TCA. Lorsque l'analyse est réalisée au laboratoire central, le STA Compact Max 3[®] (Stago, Asnières sur Seine, France) est utilisée avec comme spécimen du plasma citraté uniquement. Les variables qu'il mesure sont le TQ, le TCA, le fibrinogène, les PDF et l'ATIII.

3.2.5.5. Synthèse des données biochimiques

Un quatrième tableau (Tableaux 10 et 11) indique, pour chaque variable (biochimie, ionogramme, lactatémie, gazométrie sanguine et bilans de coagulation), la proportion d'animaux présentant des résultats diminués, augmentés et sans anomalie par rapport aux intervalles de référence et la médiane. Ce tableau donne aussi à titre indicatif les intervalles des facteurs d'augmentation ou de diminution par rapport aux bornes supérieures ou inférieures des intervalles de référence pour les ALAT, les ASAT, les PAL, les GGT, la bilirubine totale et les lactates. Cette synthèse permet de comparer les résultats obtenus bien qu'ils soient issus de différents analyseurs avec des intervalles de référence spécifiques.

3.3. Données supplémentaires

Lorsqu'un agent infectieux (viral, bactérien, fongique, ...) est détecté, sa présence, sa nature et le moyen de sa détection (snap test, PCR, sérologie, culture, ...) sont mentionnés.

II - Résultats

1. Description de la population d'étude

A l'issue de la phase de tri effectuée pour la partie rétrospective, 46 cas ont été sélectionnés. Parmi eux, 27 cas ont été exclus soit car leur frottis n'a pas été conservé, soit car il n'y a pas eu de passage en automate, soit car les inclusions d'intérêt n'ont pas été retrouvées lors de la relecture du frottis sanguin. Les frottis sanguins de 19 cas rétrospectifs (6 chiens et 13 chats) ont donc été relus et présentaient des inclusions bleu-vert de type GGD.

1.1. Population féline

Notre population d'étude féline est constituée de 17 chats. 10 chats ont été sélectionnés rétrospectivement et 7 ont été sélectionnés prospectivement. 3 chats du groupe rétrospectif ont été exclus suite à un résultat d'autofluorescence négatif.

Parmi les chats sélectionnés, 8 sont des mâles et 9 sont des femelles. Concernant le statut physiologique, 6 des mâles sont castrés et 8 des femelles sont stérilisées. 16 sont des chats Européens et 1 est un croisé Maine Coon.

Les chats de l'étude ont entre 2 et 18 ans avec une moyenne de 9.3 ans et une médiane de 10 ans.

1.2. Population canine

Notre population d'étude canine est constituée de 14 chiens. 3 chiens ont été sélectionnés rétrospectivement et 11 ont été sélectionnés prospectivement. 3 chiens du groupe rétrospectif ont été exclus suite à un résultat d'autofluorescence négatif.

Parmi les chiens sélectionnés, 11 sont des mâles et 3 sont des femelles. Concernant le statut physiologique, 5 des mâles sont castrés et 1 femelle est stérilisée.

Parmi les 13 chiens, 2 sont de race croisée : croisé Beagle pour l'un et Border Collie croisé Berger Australien pour l'autre. Les autres chiens sont de race : Chow Chow (1 chien), Bouledogue Français (2 chiens), Carlin (1 chien), Jack Russel Terrier

(1 chien), Beauceron (1 chien), Berger Belge Malinois (1 chien), Cane Corso (1 chien), Rottweiler (1 chien), Berger des Shetland (1 chien), Berger Allemand (1 chien) et Golden Retriever (1 chien).

Les chiens de notre étude ont entre 3 et 13 ans, avec une moyenne de 9.1 ans et une médiane de 9 ans.

2. Présentation clinique à l'admission et antécédents

Les motifs de présentation à l'admission les plus fréquents sont l'abattement (12 chats et 4 chiens), la dysoro-anorexie (11 chats et 3 chiens) et l'hyperthermie (3 chats et 2 chiens). Un chien était connu pour souffrir d'un mastocytome cutané de stade IV pour lequel une infiltration hépatique a été suspectée 3 mois avant l'apparition des GGD. Tous les autres animaux n'avaient pas d'antécédents connus pour des maladies hépatiques. 15 chats et au moins 5 chiens souffraient d'un SRIS.

3. Diagnostics ou conditions associées

Parmi les chats, les diagnostics regroupent des affections rénales (maladie rénale chronique et insuffisance rénale aiguë), des affections hépatiques ou hépatobiliaires (ictère hépatique, lipidose hépatique, cholélithiases et cholécystite chronique), des affections néoplasiques (lymphome digestif de haut grade, mastocytome), des affections endocriniennes (diabète acido-cétosique), des infections (pleurésie avec abcès pulmonaires, triade féline associée à une septicémie, plaies suppurées avec myases sur fond de maladie rénale chronique) et autres affections (traumatisme, anémie hémolytique à médiation immune, fécalome, détresse respiratoire de cause indéterminée). Un chat atteint d'un lymphome digestif était sous chimiothérapie et suspect de chimiotoxicité.

Parmi les chiens, les diagnostics regroupent des affections hépatiques primaires ou secondaires (ictère hépatique, cholécystite bactérienne, cholangiohépatite), des affections néoplasiques (lymphome T de haut grade, lymphome T multicentrique, suspicion de tumeur hépatique, carcinome thymique avec métastases hépatiques), des affections pulmonaires (suspicion de bronchopneumonie), des affections cardiaques (masse cardiaque, suspicion d'endocardite bactérienne) et des

affections digestives (syndrome de dilatation-torsion de l'estomac, suspicion d'ulcères digestifs, masse colique, pancréatite aiguë). 4 chiens atteints de processus néoplasiques divers (lymphome 3/4, mastocytome 1/4) étaient sous chimiothérapie et suspects de chimiotoxicité.

De fait, il existe une grande diversité de diagnostics posés ou suspectés pour les animaux de notre étude. Une tendance pour un type d'affection est difficilement objectivable dans le cadre de la détection des inclusions bleu-vert de type GGD sur le frottis sanguin à partir de nos cas.

4. Résultats des examens de laboratoire

4.1. Microscopie optique

L'observation microscopique des inclusions bleu-vert de notre étude montre des variations de forme (granule unique à de multiples granules, parfois regroupés en grappe à coalescents), ce qui leur donne un aspect global hétérogène. Leur taille est aussi très variable. Dans certains cas, leur délimitation est peu visible si bien que certains semblent se confondre. Leur couleur varie du bleu vert au bleu foncé. Leur contenu paraît dense. Les granulations ont été observées dans des neutrophiles et dans des monocytes pour les chiens et les chats (voir Figure 21). Les inclusions n'ont pas été quantifiées dans cette étude.

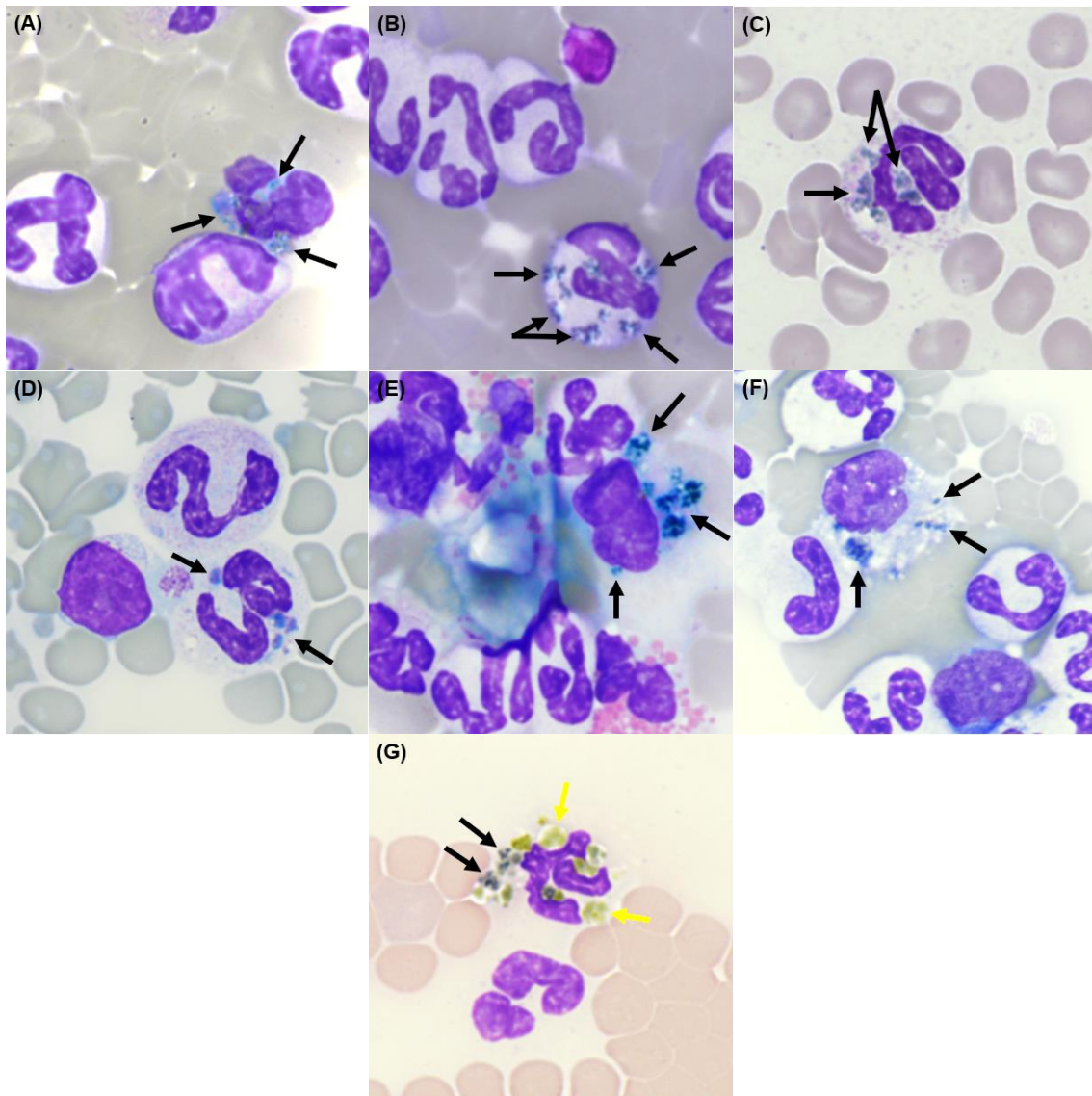


Figure 21 : Inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » dans des neutrophiles (chiens : A, B, C ; chat : D et G) et des monocytes (chiens : E ; chat : F) sur des frottis sanguins, indiqués par les flèches noires.

G : observation conjointe d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » (indiqués par des flèches noires) et d'hémossidérine (indiquée par des flèches jaunes) dans un neutrophile de chat. Coloration May-Grunwald-Giemsa, objectif x100.

4.2. Données hématologiques

4.2.1. Population féline

Pour rappel, les valeurs obtenues à l'aide des automates d'hématologie et les données obtenues à partir de l'analyse morphologique des frottis sanguins pour

chaque chat sont présentées dans les Annexes 3 et 5. Le Tableau 8 présente une synthèse de certains résultats quantitatifs obtenus chez les 17 chats, en explicitant pour chaque variable hématologique le nombre de cas présentant une augmentation, une diminution ou aucune anomalie par rapport aux valeurs de référence. Cette synthèse prend en compte les intervalles de référence spécifiques des différents analyseurs.

Variables hématologiques	↘	Dans l'IR	↗
RBC-O	5/17 [1.5 – 4.9]	11/17	1/17 [1.06]
HCT	8/17 [1.03 – 4.6]	9/17	-
HGB	6/17 [1.3 – 4.5]	10/17	1/17 [1.09]
VGM	2/17 [1.04 – 1.05]	14/17	1/17 [1.3]
TCMH	2/17 [1.03 – 1.1]	14/17	1/17 [1.6]
CCMH	2/17 [1.01 – 1.02]	12/17	2/17 [1.04 – 1.2]
IDR	4/17 [1.03 – 1.2]	10/17	3/17 [1.05 – 1.1]
WBC	-	9/17	8/17 [1.01 – 2.2]
Neutrophiles	-	6/17	11/17 [1.03 – 3.4]
Lymphocytes	8/17 [1.3 – max]	9/17	-
Monocytes	4/17 [max]	4/17	9/17 [1.03 – 7.7]
Eosinophiles	12/17 [1.5 – max]	5/17	-
Plaquettes	7/17 [1.6 – 14.5]	10/17	-

Tableau 8 : Variation des principales variables hématologiques chez 17 chats présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin.

Entre crochets : facteur ou intervalle des facteurs d'augmentation ou de diminution par rapport aux bornes supérieure ou inférieure des intervalles de référence. Colonne « ↘ » : « max » signifie que la ou les valeur(s) les plus diminuées sont égales à 0.

RBC : numération totale en hématies, HCT : hématocrite, HGB : hémoglobémie, VGM : volume globulaire moyen, TCHM : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, IDR : indice de distribution des globules rouges, WBC : numération totale leucocytaire.

Tous les hémogrammes qui ont permis la mise en évidence des inclusions bleu-vert de type GGD sur le frottis sanguin ont été réalisés le jour de l'admission des chats excepté pour l'un d'entre eux (réalisé 2 jours après l'admission). Pour ce chat, un premier hémogramme avait été réalisé à l'admission et n'avait pas permis de révéler la présence d'inclusions bleu-vert sur le frottis sanguin.

8 chats sur 17 présentent une leucocytose neutrophilique dont 7 avec une courbe d'Arneth déviée à gauche (« *left shift* »). Parmi eux, 6 chats présentent également une monocytose. Une neutrophilie isolée est observée chez 3 chats dont 2 avec une courbe d'Arneth déviée à gauche. Enfin, on rapporte une lymphopénie chez 8 chats.

Tous les chats présentent des signes de toxicité dans leurs neutrophiles (cytoplasme sale, vacuoles, corps de Döhle). Les inclusions bleu-vert ont été observées uniquement dans des neutrophiles chez 13 chats, dans des neutrophiles et des monocytes chez 2 chats et uniquement dans des monocytes chez 2 chats. D'autres anomalies sont rapportées dans quelques cas (ex : cellules lymphoïdes réactionnelles, blastes circulants...) (voir Annexe 5).

6 chats présentent une anémie légère à sévère, régénérative pour 3 d'entre eux. Les tests d'agglutination réalisés dans ces cas ont montré une positivité pour un seul d'entre eux. Cependant, il est à noter que ce test a été réalisé immédiatement après une xéno-transfusion. Un test de Coombs réalisé sur ce même chat a montré une forte positivité. D'autres anomalies concernant les hématies sont rapportées dans certains cas (ex : poïkylocytose, corps de Heinz, ...) (voir Annexe 5).

7 chats sur 17 présentent une thrombopénie vraie. D'autres anomalies concernant les plaquettes sont parfois retrouvées : macroplaquettes (7/17), plaquettes géantes (3/17), amas plaquettaires (10/16).

4.2.2. Population canine

Pour rappel, les valeurs obtenues à l'aide des automates d'hématologie et les données obtenues à partir de l'analyse morphologique des frottis sanguins pour chaque chien sont présentées dans les Annexes 4 et 6. Le Tableau 9 présente une synthèse de certains résultats quantitatifs obtenus chez les 14 chiens, en explicitant

pour chaque variable hématologique le nombre de cas présentant une augmentation, une diminution ou aucune anomalie par rapport aux valeurs de référence. Cette synthèse prend en compte les intervalles de référence spécifiques des différents analyseurs.

Variables hématologiques	↘	Dans l'IR	↗
RBC-I	6/14 [1.06 – 1.5]	7/14	1/14 [1.3]
HCT	8/14 [1.01 – 1.5]	5/14	1/14 [1.2]
HGB	7/14 [1.03 – 1.7]	6/14	1/14 [1.2]
VGM	-	12/14	2/14 [1.003 – 1.03]
TCMH	3/14 [1.03 – 1.06]	10/14	1/14 [1.01]
CCMH	3/14 [1.02 – 1.1]	11/14	-
IDR	2/14 [1.01 – 1.02]	11/14	1/14 [1.3]
RET	-	11/14	3/14 [2.0 – 3.1]
WBC	3/14 [1.04 – 4.6]	7/14	4/14 [1.1 – 2.6]
Neutrophiles	2/14 [7.2 – 20.0]	7/14	5/14 [1.2 – 3.4]
Lymphocytes	10/14 [1.2 – max]	4/14	-
Monocytes	4/14 [1.5 – 3.8]	8/14	2/14 [1.7 – 2.8]
Eosinophiles	11/14 [1.8 – max]	2/14	1/14 [1.3]
Plaquettes	4/14 [1.1 – 7.7]	8/14	-

Tableau 9 : Variation des principales variables hématologiques chez 14 chiens présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin.

Entre crochets : facteur ou intervalle des facteurs d'augmentation ou de diminution par rapport aux bornes supérieure ou inférieure des intervalles de référence. Colonne « ↘ » : « max » signifie que la ou les valeur(s) les plus diminuées sont égales à 0.

RBC : numération totale en hématies, HCT : hématocrite, HGB : hémoglobémie, VGM : volume globulaire moyen, TCHM : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, IDR : indice de distribution des globules rouges, RET : réticulocytes, WBC : numération totale leucocytaire.

Tous les hémogrammes qui ont permis la mise en évidence des inclusions bleu-vert de type GGD sur le frottis sanguin ont été réalisés le jour de l'admission des chiens excepté pour 3 d'entre eux (réalisés 1, 2 et 3 jours après l'admission). Pour ces 3 chiens, un premier hémogramme avait été réalisé à l'admission et n'avait pas permis de révéler la présence d'inclusions bleu-vert sur le frottis sanguin.

4 chiens sur 14 présentent une leucocytose neutrophilique dont 2 avec une courbe d'Arneth déviée à gauche et une monocytose. Une neutrophilie isolée est observée chez 1 chien avec une courbe d'Arneth déviée à gauche. Une leucopénie est rapportée chez 3 chiens et on note une lymphopénie chez 10 chiens.

10 chiens sur 14 présentent des signes de toxicité dans leurs neutrophiles (cytoplasme sale, vacuoles, corps de Döhle). Les inclusions bleu-vert ont été observées uniquement dans des neutrophiles chez 7 chiens, dans des monocytes uniquement chez 6 chiens et dans des neutrophiles et des monocytes chez 1 chien. D'autres anomalies concernant les leucocytes sont rapportées dans quelques cas (ex : mastocytes circulants, cellules lymphoïdes circulantes, signes de dysmyélopoïèse, ...) (voir Annexe 6).

7 chiens présentent une anémie légère à modérée, celle-ci étant régénérative pour 3 d'entre eux. Les tests d'agglutination réalisés dans ces cas ont tous été négatifs. Aucun test de Coombs n'a été réalisé. D'autres anomalies concernant les hématies sont rapportées chez certains cas (ex : rouleaux, hématies à bords flous, poïkilocytose, ...) (voir Annexe 6).

4 chiens sur 14 présentent une thrombopénie vraie. D'autres anomalies concernant les plaquettes sont parfois retrouvées : macroplaquettes (10/14), plaquettes géantes (4/14), amas plaquettaires (5/14).

4.3. Données biochimiques

4.3.1. Population féline

Pour rappel, les valeurs obtenues à l'aide des automates de biochimie pour chaque chat sont présentées dans les Annexes 7 et 9. Le Tableau 10 présente une synthèse des résultats obtenus chez les 17 chats, en explicitant pour chaque variable biochimique le nombre de cas présentant une augmentation, une diminution ou

aucune anomalie par rapport aux valeurs de référence. Cette synthèse prend en compte les intervalles de référence spécifiques des différents analyseurs.

Variables biochimiques	↘	Dans l'IR	↗
Alanines aminotransférases	-	5/15	10/15 [1.4 – 48.2]
Aspartates aminotransférases	-	-	7/7 [1.1 – 25.3]
Phosphatases alcalines	3/15 [1.2 – >1.4]	8/15	4/15 [1.01 – 3.6]
Gamma glutamyl-transférases	-	8/15	7/15 [1.8 – 6.8]
Bilirubine totale	-	5/15	10/15 [2.4 – 13.7]
Créatine kinase	-	6/7	1/7
Protéines totales	2/15	10/15	3/15
Albumine	2/15	12/15	1/15
Rapport albumine/globuline	10/15	5/15	-
Créatinine	4/14	5/14	5/14
Urée	-	7/15	8/15
Glucose	2/15	7/15	6/15
NH ₃	-	3/3	-
Phosphates	2/15	9/15	4/15
Calcium	6/14	8/14	-
Magnésium	1/8	2/8	5/8
Cholestérol	-	13/15	2/15
Triglycérides	-	5/7	2/7
SAA	-	0/1	1/1
Na ⁺	6/12	6/12	-
K ⁺	5/12	6/12	1/12

Variables biochimiques	↘	Dans l'IR	↗
Cl ⁻	2/12	10/12	-
Lactates	-	4/12	8/12 [1.3 – 10.0]
pH	4/7	3/7	-
BE	7/7	-	-
HCO ₃ ⁻	6/12	6/12	-
pCO ₂	-	7/7	-
Ca ²⁺	3/9	6/9	-

Tableau 10 : Variation des principales variables biochimiques chez 17 chats présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin.

Entre crochets : intervalle des facteurs d'augmentation par rapport à la borne supérieure des intervalles de référence.

NH₃ : ammoniac, SAA : protéine sérique amyloïde A, BE : base excess, HCO₃⁻ : bicarbonates, pCO₂ : pression partielle en CO₂.

10 chats parmi 15 testés présentent une activité des ALAT augmentée (1.4 – 48.2 fois la limite supérieure de l'IR) et tous les chats parmi les 7 testés présentent une activité des ASAT augmentée (1.1 – 25.3 fois la limite supérieure de l'IR).

L'activité des PAL est augmentée chez 4 chats parmi 15 (1.01 – 3.6 fois la limite supérieure de l'IR) et l'activité des GGT est augmentée chez 7 chats parmi 15 (1.8 – 6.8 fois la limite supérieure de l'IR). 10 chats sur 15 présentent une hyperbilirubinémie (jusqu'à 13.7 fois la limite supérieure de l'IR).

On remarque également des fréquences non négligeables de diminution du rapport albumine/globuline (10/15) et du calcium (6/14) et d'augmentation de l'urée (8/15), de la créatinine (5/14) et du glucose (6/15). Le reste des variables étudiées présente des fréquences d'augmentation ou de diminution plus anecdotiques.

5 chats parmi 7 évalués présentent une acidose métabolique.

4.3.2. Population canine

Les valeurs obtenues à l'aide des automates de biochimie pour chaque chien sont présentées dans les Annexes 8 et 10. Le Tableau 11 présente une synthèse des résultats obtenus chez les 14 chiens, en explicitant pour chaque variable biochimique le nombre de cas présentant une augmentation, une diminution ou aucune anomalie par rapport aux valeurs de référence. Cette synthèse prend en compte les intervalles de référence spécifiques des différents analyseurs.

Variabiles biochimiques	↘	Dans l'IR	↗
Alanines aminotransférases	-	-	12/12 [1.8 – 160.7]
Aspartates aminotransférases	-	1/10	9/10 [1.1 – 366.4]
Phosphatases alcalines	-	2/12	10/12 [1.3 – 34.9]
Gamma glutamyl-transférases	-	8/11	3/11 [1.2 – 21.5]
Bilirubine totale	-	8/13	5/13 [1.1 – 6.3]
Créatine kinase	-	6/10	4/10
Protéines totales	1/12	7/12	4/12
Albumine	1/12	11/12	-
Rapport albumine/globuline	2/12	10/12	-
Créatinine	1/12	7/12	4/12
Urée	-	6/12	6/12
Glucose	1/12	11/12	-
NH ₃	-	5/5	-
Phosphates	-	8/11	3/11
Calcium	2/7	5/7	-
Magnésium	2/10	6/10	2/10
Cholestérol	-	9/11	2/11

Variables biochimiques	↘	Dans l'IR	↗
Triglycérides	-	5/10	5/10
CRP	-	-	2/2
Na ⁺	2/11	9/11	-
K ⁺	2/11	8/11	1/11
Cl ⁻	6/11	5/11	-
Lactates	-	3/8	5/8 [1.3 – 6.0]
pH	1/4	1/4	2/4
BE	-	3/4	1/4
HCO ₃ ⁻	3/11	6/11	2/11
pCO ₂	1/4	2/4	1/4
Ca ²⁺	4/8	4/8	-

Tableau 11 : Variation des principales variables biochimiques chez 14 chiens présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin.

Entre crochets : intervalle des facteurs d'augmentation par rapport à la borne supérieure des intervalles de référence.

NH₃ : ammoniac, CRP : Protéine C-réactive, BE : base excess, HCO₃⁻ : bicarbonates, pCO₂ : pression partielle en CO₂.

Tous les chiens parmi les 12 testés présentent une activité des ALAT augmentée (1.8 – 160.7 fois la limite supérieure de l'IR) et 9 chiens parmi 10 présentent une activité des ASAT augmentée (1.1 – 366.4 fois la limite supérieure de l'IR).

L'activité des PAL est augmentée chez 10 chiens parmi 12 (1.3 – 34.9 fois la limite supérieure de l'IR) et l'activité des GGT est augmentée chez 3 chiens parmi 11 (1.2 – 21.5 fois la limite supérieure de l'IR). 5 chiens sur 13 présentent une hyperbilirubinémie (jusqu'à 6.3 fois la limite supérieure de l'IR).

On remarque également des fréquences non négligeables d'augmentation de l'urée (6/12), de la créatinine (4/12), de l'activité des créatines kinases (4/10) et des

protéines totales (4/12). Le reste des variables étudiées présente des fréquences d'augmentation ou de diminution plus anecdotiques.

3 chiens parmi 4 testés présentent des anomalies à la gazométrie sanguine. 1 chien présente une alcalose métabolique, 1 chien présente une alcalose respiratoire et 1 chien présente une acidose respiratoire.

4.4. Variable d'hémostase

4.4.1. Population féline

Les valeurs obtenues pour chaque chat sont présentées dans l'Annexe 11. Le Tableau 12 synthétise les résultats des bilans d'hémostase des chats.

Variables d'hémostase	↘	Dans l'IR	↗
Temps de Quick	-	1/2	1/2 [1.1]
Temps de céphaline activé	-	1/2	1/2 [1.04]
Fibrinogène	-	-	2/2 [1.3 – 2.1]
Antithrombine III	-	1/1	-

Tableau 12 : Variation des données du bilan d'hémostase chez 2 chats présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin.

Entre crochets : facteur ou intervalle des facteurs d'augmentation par rapport à la borne supérieure des intervalles de référence.

Les bilans d'hémostase de 2 chats ont été réalisés. Le TQ et le TCA sont prolongés pour un seul des 2 chats (de 1.1 et 1.04 fois la valeur supérieure de l'IR respectivement). Le fibrinogène est augmenté chez les 2 chats (1.3 et 2.1 fois la valeur supérieure de l'IR). L'activité de l'ATIII est dans l'intervalle de référence pour le seul chat testé.

4.4.2. Population canine

Les valeurs obtenues pour chaque chien sont présentées dans l'Annexe 12. Le Tableau 13 synthétise les résultats des bilans d'hémostase des chiens.

Variables d'hémostase	↘	Dans l'IR	↗
Temps de Quick	-	2/7	5/7 [1.1 – >6]
Temps de céphaline activé	-	-	7/7 [1.1 – >3]
Fibrinogène	2/6 [1.9 – 3]	4/6	-
PDF	-	3/4	1/4
Antithrombine III	3/4 [1.2 – 1.8]	1/4	-

Tableau 13 : Variation des données du bilan d'hémostase chez 7 chiens présentant des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin.

Entre crochets : intervalle des facteurs d'augmentation et de diminution par rapport aux bornes supérieure ou inférieure des intervalles de référence.

PDF : produits de dégradation de la fibrine.

Les bilans d'hémostase de 7 chiens ont été réalisés. Un chien n'a été testé que pour le TQ et le TCA. 4 chiens ont été testés pour l'ensemble du bilan d'hémostase (TQ, TCA, fibrinogène, PDF, ATIII). 2 chiens n'ont été testés que pour le TQ, le TCA et le fibrinogène. 5 chiens sur 7 ont un TQ allongé (entre 1.1 et plus de 6 fois la valeur supérieure de l'IR). Les 7 chiens ont tous un TCA allongé (entre 1.1 et plus de 3 fois la valeur supérieure de l'IR). Le fibrinogène est diminué chez 2 chiens parmi 6 (1.9 – 3 fois la valeur inférieure de l'IR). Les PDF d'un des 4 chiens testés sont augmentés. Enfin, l'activité de l'ATIII est diminuée chez 3 chiens parmi 4 (1.2 – 1.8 fois la valeur supérieure de l'IR).

5. Autres résultats

Concernant la présence éventuelle d'agents infectieux : un chat présentait des bactéries visibles à la cytologie urinaire mais une bactériologie urinaire n'a pas été réalisée, un autre chat présentait des bacilles visibles dans des neutrophiles sur une préparation cytologique d'une masse pulmonaire. La bactériologie réalisée à partir de

l'échantillon de la même masse pulmonaire n'a pas permis d'identifier de germe. Les tests réalisés pour le virus de l'immunodéficience féline et pour le virus leucémogène félin (FIV/FeLV) ont été négatifs (4 chats). Un chien présentait des bactéries (bacilles et coques) visibles à la cytologie urinaire mais une bactériologie urinaire n'a pas été réalisée. Un autre chien a montré la présence de *Campylobacter jejuni* suite à une bactériologie réalisée sur une ponction de bile et à une hémoculture.

Une cytologie d'épanchement abdominal chez un chien a révélé la présence de pigments verdâtres dans les monocytes évoquant, entre autres, une substance « *lipofuscin-like* » phagocytée. L'autofluorescence pour ces pigments était positive à 488 et 594 nm mais non à 305 nm, contrairement aux inclusions vues sur les frottis sanguins.

Aucun examen cytologique du foie n'a été réalisé chez les chats. Des cytoponctions à l'aiguille fine sur les foies de 2 chiens ont été réalisées. L'une était non conclusive en raison de la paucicellularité des prélèvements et l'autre a mis en évidence un contingent inflammatoire associé à des précurseurs myélomonocytaires et des signes de cholestase intra-hépatique.

6. Issues cliniques

6.1. Population féline

6.1.1. Mortalité globale et après détection des GGD

Parmi les 17 chats, 13 sont décédés (76%), dont 6 d'un arrêt cardio-respiratoire. Les 7 autres ont été euthanasiés. 11 sont décédés moins de 3 jours après la détection des GGD (65%). Les 13 chats sont tous décédés moins de 14 jours après détection des GGD. La médiane de la mortalité après observation des GGD est de 0 jour (le jour 0 est le jour de détection) ([j0 – j8]).

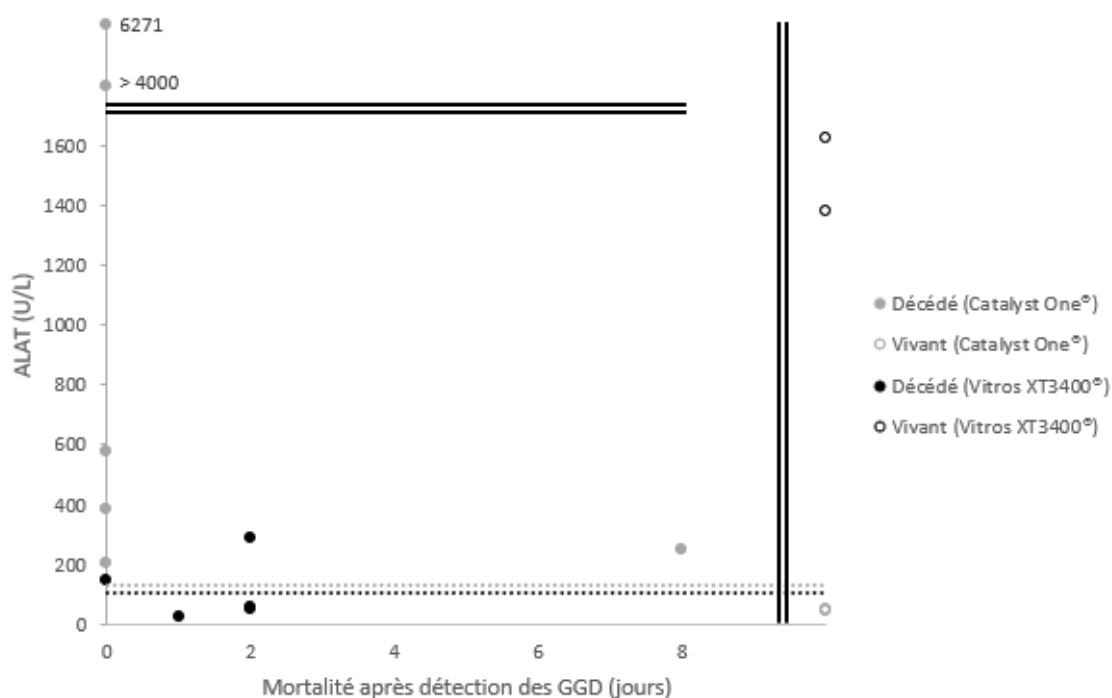
Les 2 chats qui ne présentaient pas de SRIS ont survécu. Tous les chats décédés présentaient un SRIS. Deux chats ont présenté un SRIS et ont survécu.

6.1.2. Mortalité et variables biochimiques d'intérêt

Pour les chats de notre étude, il semble que les ALAT, les ASAT, les lactates et la bilirubine totale soient les variables plus fréquemment modifiées d'après les bilans biochimiques réalisés dans notre étude (nombre de mesures les plus élevées, proportions de valeurs augmentées élevées). Nous proposons ici une simple visualisation du couple mortalité suivant la détection des inclusions de type GGD ou survie des animaux et valeurs de ces variables.

6.1.2.1. ALAT

Le Graphique 6 présente les différentes valeurs d'activité des ALAT obtenues pour les 15 chats testés en fonction de la mortalité objectivée après détection des GGD.



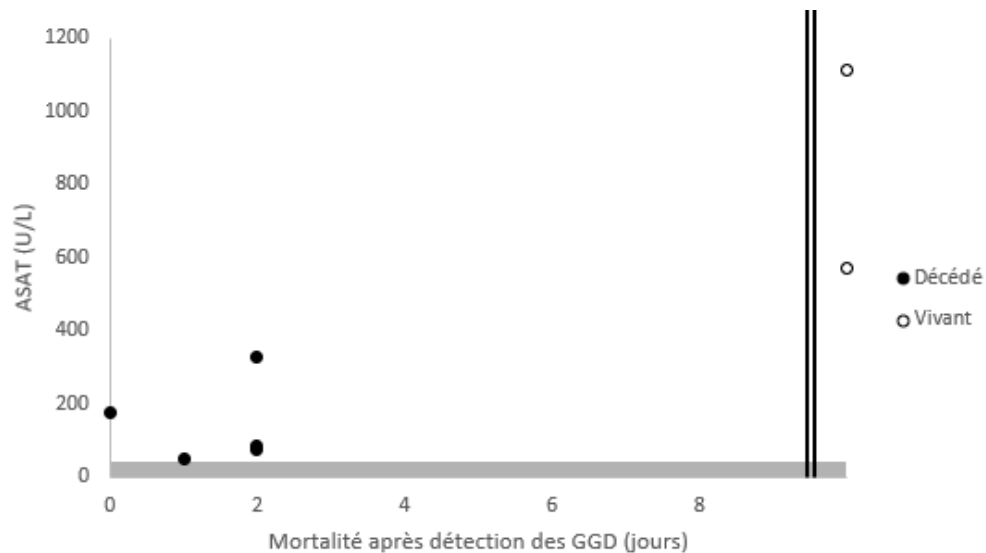
Graphique 6 : Activité des ALAT en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin pour 15 chats.

La barre noire en pointillés correspond à la valeur haute de l'intervalle de référence du Vitros XT3400®. La barre grise en pointillés correspond à la valeur haute de l'intervalle de référence du Catalyst One®. La double barre noire verticale sépare les animaux décédés (à gauche) des vivants (à droite). La double barre noire horizontale sépare les valeurs d'ALAT les plus hautes (au-dessus) des valeurs les plus basses (en-dessous).

2 des 4 chats ayant présenté les valeurs d'activité des ALAT les plus hautes ont survécu. De plus, des chats dont les valeurs étaient dans l'IR sont décédés. Ces résultats sont donc peu interprétables vis-à-vis de la mortalité dans le cadre de la détection de GGD.

6.1.2.2. ASAT

Le Graphique 7 présente les différentes valeurs d'activité des ASAT obtenues pour les 7 chats testés en fonction de la mortalité objectivée après détection des GGD.



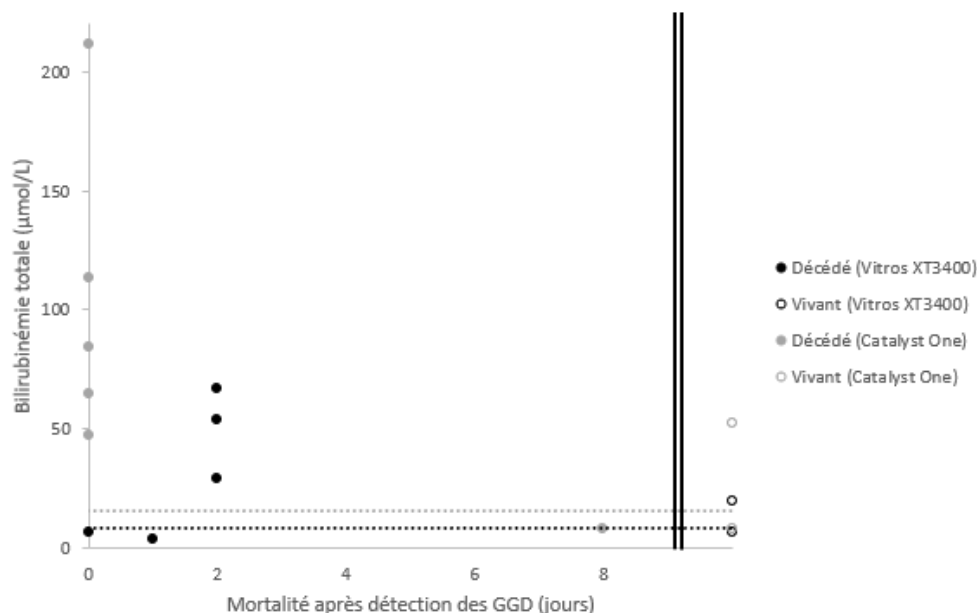
Graphique 7 : Activité des ASAT en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin pour 7 chats.

La zone grise correspond à l'intervalle de référence de l'activité des ASAT ([0 – 44] U/L). La double barre noire verticale sépare les animaux décédés (à gauche) des vivants (à droite).

Les 2 chats qui ont présenté les valeurs d'activité des ASAT les plus hautes ont survécu. Ces résultats ne sont donnés qu'à titre informatif, car aucune conclusion ne peut être tirée entre la valeur de l'activité des ASAT mesurée et la mortalité ou survie dans le cadre de la détection des GGD chez le chat, étant donné le peu d'animaux testés dans chacun des groupes (mort vs. survivants) pour cette variable biologique dans notre étude.

6.1.2.3. Bilirubine totale

Le Graphique 8 présente les valeurs de bilirubine totale obtenues pour les 15 chats testés en fonction de la mortalité objectivée après détection des GGD.



Graphique 8 : Bilirubinémie totale en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « green granules of death » sur le frottis sanguin pour 15 chats.

La barre noire en pointillés correspond à la valeur haute de l'intervalle de référence du Vitros XT3400®.

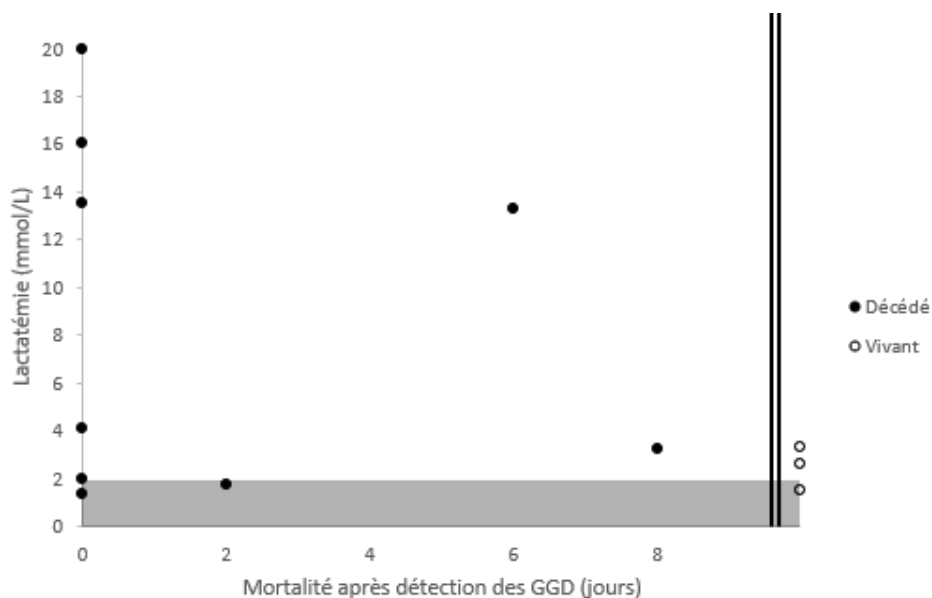
La barre grise en pointillés correspond à la valeur haute de l'intervalle de référence du Catalyst One®.

La double barre noire verticale sépare les animaux décédés (à gauche) des vivants (à droite).

Les chats ayant présenté les valeurs les plus élevées de bilirubine totale sont décédés en moins de 2 jours après la détection des GGD. 2 chats ont présenté une hyperbilirubinémie totale et ont survécu, néanmoins cette dernière restait légère à modérée. Une hyperbilirubinémie totale marquée pourrait éventuellement représenter un facteur de gravité dans le cadre de la détection de GGD chez le chat. Davantage de cas seraient absolument nécessaires pour le prouver.

6.1.2.4. Lactates

Le Graphique 9 présente les différentes valeurs de lactatémies obtenues pour les 12 chats testés en fonction de la mortalité objectivée après détection des GGD.



Graphique 9 : Lactatémie en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin pour 12 chats.

La zone grise correspond à l'intervalle de référence de la lactatémie ([0.0 – 2.0] mmol/L). La double barre noire verticale sépare les animaux décédés (à gauche) des vivants (à droite).

2 chats qui présentaient une hyperlactatémie ont survécu. Cette hyperlactatémie restait néanmoins modérée. 2 chats ont présenté une lactatémie dans l'IR et sont décédés en moins de 2 jours après l'observation des GGD.

Les 4 chats ayant présenté une hyperlactatémie marquée sont tous décédés dans les 6 jours suivant la détection des GGD, dont 3 le jour même de la détection des GGD. Il semblerait que l'hyperlactatémie, notamment quand celle-ci est marquée, pourrait être un éventuel facteur de gravité lorsque des GGD sont observés sur le frottis sanguin chez les chats. Davantage de cas seraient toutefois nécessaires pour le prouver.

6.2. Population canine

6.2.1. Mortalité globale et après détection des GGD

Parmi les 14 chiens, 12 sont décédés (86%) dont 4 d'un arrêt cardio-respiratoire. 6 ont été euthanasiés et 2 sont morts de cause inconnue. 5 sont décédés moins de 3 jours après la détection des GGD (36%) et 7 sont décédés dans les 14 jours suivant la détection des GGD (50%). La médiane de la mortalité après observation des GGD est de 6.5 jours ([0 – 218]).

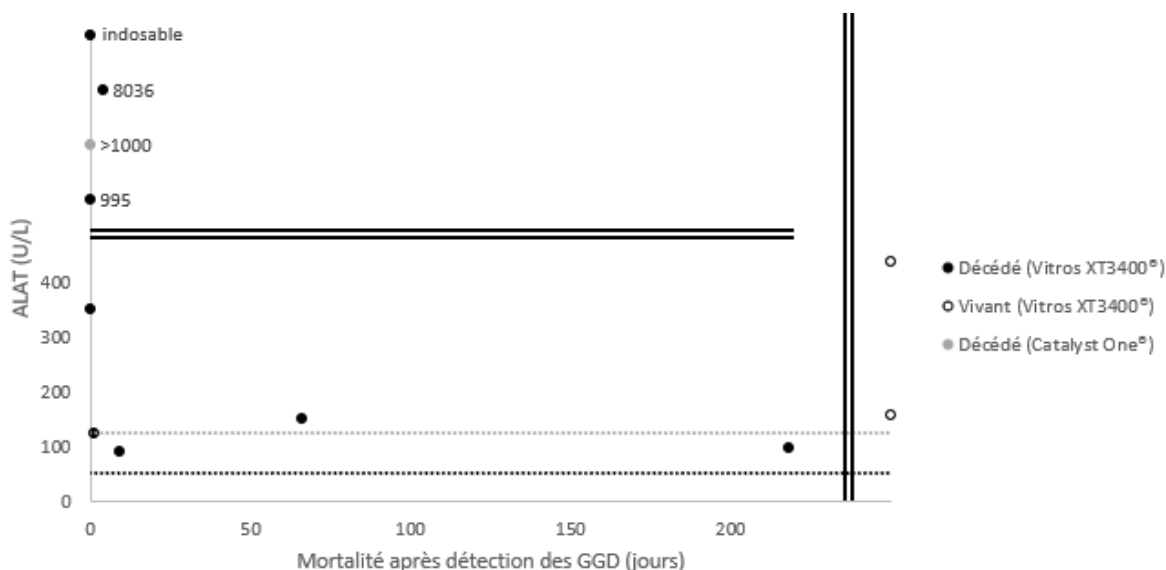
5 chiens n'ont pas pu être évalués vis-à-vis du SRIS (manque de données cliniques). Parmi les 5 chiens qui présentaient un SRIS, 4 sont décédés moins de 14 jours après la détection des inclusions bleu-vert sur le frottis sanguin. Parmi les 4 chiens qui ne présentaient pas de SRIS, 2 sont décédés moins de 14 jours après la détection des GGD, 1 est décédé 37 jours après et 1 est vivant.

6.2.2. Mortalité et variables biochimiques d'intérêt

Pour les chiens de notre étude, il semble que les ALAT, les PAL, et les lactates soient les variables les plus fréquemment modifiées d'après les bilans biochimiques réalisés dans notre étude (nombre de mesures les plus élevées, proportions de valeurs augmentées élevées). Nous proposons ici une simple visualisation du couple mortalité suivant la détection des inclusions de type GGD ou survie des animaux et valeurs de ces variables.

6.2.2.1. ALAT

Le Graphique 10 présente les différentes valeurs d'activité des ALAT obtenues pour les 12 chiens testés en fonction de la mortalité objectivée après détection des GGD.



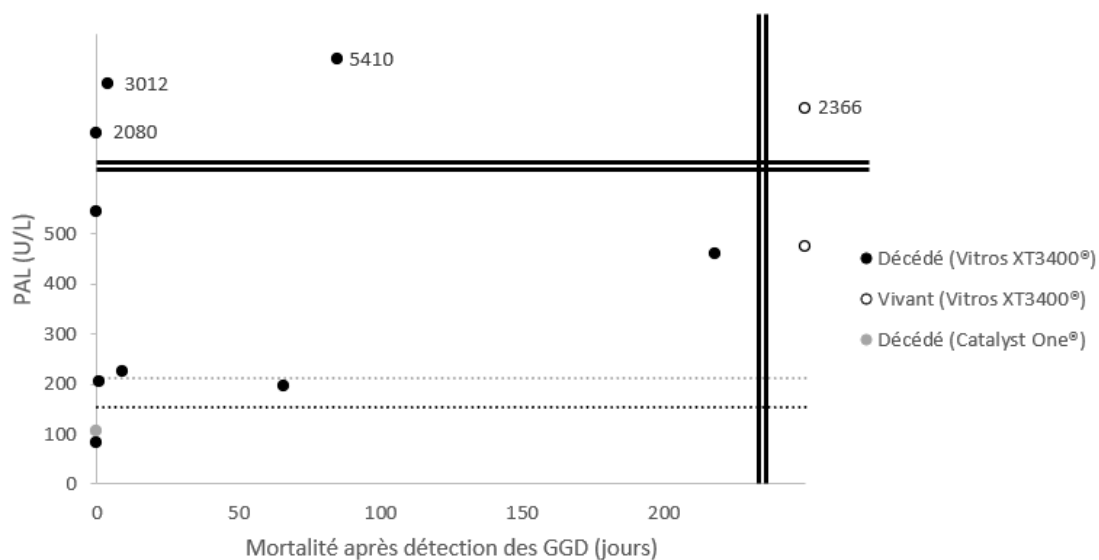
Graphique 10 : Activité des ALAT en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « green granules of death » sur le frottis sanguin pour 12 chiens.

La barre noire en pointillés correspond à la valeur haute de l'intervalle de référence du Vitros XT3400®. La barre grise en pointillés correspond à la valeur haute de l'intervalle de référence du Catalyst One®. La double barre noire verticale sépare les animaux décédés (à gauche) des vivants (à droite). La double barre noire horizontale sépare les valeurs d'ALAT les plus hautes (au-dessus) des valeurs les plus basses (en-dessous).

Les 4 chiens ayant présenté les valeurs d'activité des ALAT les plus hautes sont tous décédés le jour de la détection des GGD. Toutefois, les 2 chiens testés qui ont survécu présentaient également des valeurs augmentées par rapport aux IR, et 2 chiens parmi les chiens décédés à court terme à la suite de la détection de GGD présentaient des valeurs plus faibles que celles des chiens survivants. Il est donc difficile de conclure si une augmentation de l'activité des ALAT pourrait représenter un facteur de gravité dans le cadre de la détection de GGD chez le chien, à moins que celle-ci soit de forte intensité. Il serait nécessaire d'évaluer cette possibilité sur un plus grand nombre de cas.

6.2.2.2. PAL

Le Graphique 11 présente les différentes valeurs d'activité des PAL obtenues pour les 12 chiens testés en fonction de la mortalité objectivée après détection des GGD.



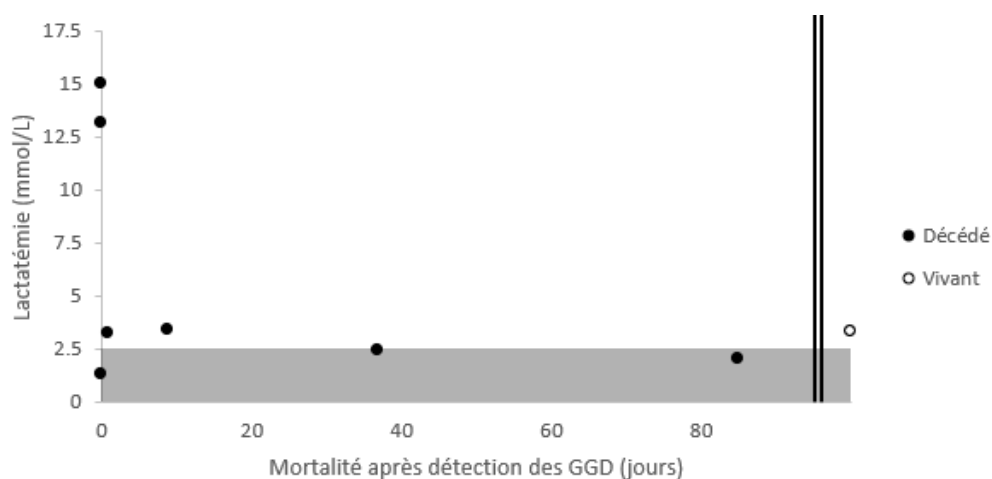
Graphique 11 : Activité des PAL en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin pour 12 chiens.

La barre noire en pointillés correspond à la valeur haute de l'intervalle de référence du Vitros XT3400®. La barre grise en pointillés correspond à la valeur haute de l'intervalle de référence du Catalyst One®. La double barre noire verticale sépare les animaux décédés (à gauche) des vivants (à droite). La double barre noire horizontale sépare les valeurs de PAL les plus hautes (au-dessus) des valeurs les plus basses (en-dessous).

Parmi les 4 chiens ayant présenté les valeurs les plus hautes, l'un d'eux a survécu et les 3 autres sont morts soit le jour de la détection des GGD (2 chiens), soit 85 jours après la détection des GGD. Les 2 chiens qui présentaient des valeurs dans l'intervalle de référence sont décédés. Ces résultats sont donc peu concluants vis-à-vis de la mortalité dans le cadre de la détection de GGD.

6.2.2.3. Lactates

Le Graphique 12 présente les différentes valeurs de lactatémie obtenues pour les 8 chiens testés en fonction de la mortalité objectivée après détection des GGD.



Graphique 12 : Lactatémie en fonction de la mortalité après détection des inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin pour 8 chiens.

La zone grise correspond à l'intervalle de référence de la lactatémie ([0.0 – 2.5] mmol/L). La double barre noire verticale sépare les animaux décédés (à gauche) des vivants (à droite).

Les 2 chiens ayant présenté une hyperlactatémie marquée sont décédés le jour de la détection des GGD. Parmi les 5 chiens décédés à court terme (<14j), 4 chiens ont présenté une hyperlactatémie. Certains chiens ont présenté des valeurs de lactatémie en dessous du seuil d'intérêt et sont décédés jusqu'à 85 jours après la détection des GGD sur leur frottis sanguin. Un chien ayant présenté une hyperlactatémie (légère) a survécu. Il semble donc que seule l'hyperlactatémie marquée, pourrait éventuellement représenter un facteur de gravité lorsque des GGD sont observés sur le frottis sanguin chez les chiens. En revanche, une hyperlactatémie légère à modérée ne semblerait pas avoir de valeur pronostique négative. Davantage de cas seraient toutefois absolument nécessaires pour évaluer si l'hyperlactatémie pourrait être réellement un facteur pronostique péjoratif.

III - Discussion

Cette étude a documenté tous les cas répertoriés de chiens et de chats ayant présenté des inclusions bleu-vert de type GGD sur le frottis sanguin à l'ENVT depuis 2021.

La caractérisation morphologique des inclusions bleu-vert de type GGD observées sur le frottis sanguin de chiens et de chats dans notre étude est similaire à celle rapportée en médecines humaine et vétérinaire. L'étude récente publiée chez le chien par Sebastian et al. a par ailleurs permis de mettre en évidence que ces inclusions avaient les mêmes caractéristiques que la lipofuscine, contrairement aux articles publiés en médecine humaine évoquant plutôt un composé « *lipofuscin-like* », autant du point de vue de leur morphologie microscopique, de leur caractère autofluorescent et de leur caractérisation par des colorations spécifiques. Nous avons donc utilisé le caractère autofluorescent positif pour sélectionner les cas dans notre étude. Cela nous a permis de sélectionner au mieux les cas, en écartant notamment les possibles inclusions liées à des pigments de type hémossidérine qui sont parfois délicates à différencier des inclusions de type GGD d'un point de vue strictement cytologique. Pour l'autofluorescence, la pré-localisation sur les frottis sanguins pré-colorés au MGG nous a permis de retrouver facilement les inclusions d'intérêt, et ainsi d'évaluer leur caractère autofluorescent ou non.

Lors de la réalisation de nos examens d'autofluorescence, nous avons par ailleurs remarqué, en plus du spectre large inhérent à la « lipofuscine », que l'intensité d'autofluorescence des inclusions bleu-vert de type GGD avait tendance à diminuer ou plus rarement à disparaître entre la première longueur d'onde d'excitation testée (305 nm) et la dernière (594 nm), et ceci de façon générale. Deux exemples de ce phénomène (chez un chat et chez un chien) sont présentés dans les Figures 26 et 27, à comparer avec un résultat négatif à 488 nm et 594 nm (Figure 28). Ce phénomène se produisait également pour nos témoins positifs (pigments de lipofuscine dans des hépatocytes). La lipofuscine ou les composés « *lipofuscin-like* » sont connus pour avoir un spectre large d'autofluorescence (des ultraviolets jusqu'à 500 nm, voire jusqu'à 700 nm) (Croce et al. 2018). Il est à noter que, dans l'article de Sebastian et al, l'autofluorescence des inclusions bleu-vert de type GGD a été observée pour des

longueurs d'ondes comprises entre 400 et 600 nm. De plus, d'après les observations « personnelles » des auteurs, l'autofluorescence disparaissait sur des frottis pré-colorés. Ils suggèrent que ce phénomène pourrait expliquer l'absence d'autofluorescence des inclusions dans certaines publications de médecine humaine. Dans notre étude, tous les frottis sanguins ont été soumis à la microscopie à fluorescence après avoir été colorés, et les inclusions ont toutefois bien montré un caractère d'autofluorescence sur un spectre compatible avec celui décrit pour la lipofuscine. Nous pouvons penser que la baisse d'intensité d'autofluorescence sur certains de nos frottis colorés pour les longueurs d'onde les plus élevées peut être simplement liée à l'éloignement du pic maximal d'excitation décrit pour la lipofuscine (325-380 nm) (Yin 1996). Nous ne pouvons pas exclure que cela puisse être aussi en partie lié à la pré-coloration spécifique des frottis, ou moins probablement à une hétérogénéité de composition de ces granules de type GGD. La coloration utilisée pour les frottis de l'étude de Sebastian et al. a aussi pu différer de celle utilisée dans notre laboratoire.

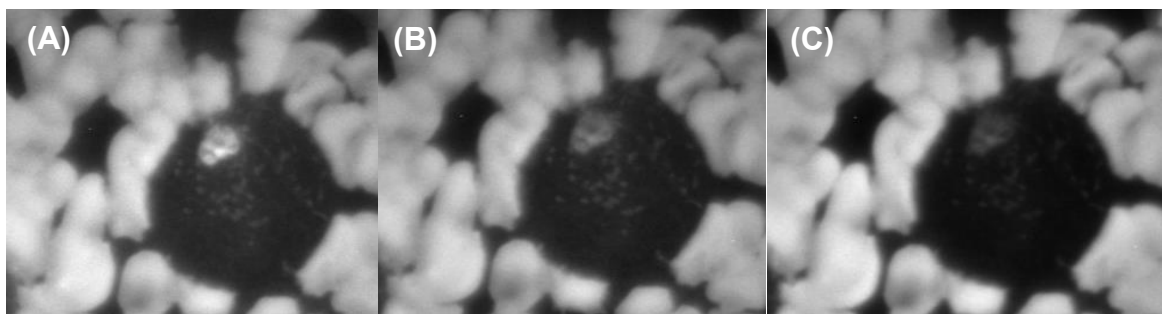


Figure 22 : Résultats d'autofluorescence d'une inclusion de type « *green granules of death* » dans un monocyte de chat révélant une baisse d'intensité entre 305 nm et 594 nm.

A : résultat positif (305 nm), B : résultat positif (488 nm), C : résultat faiblement positif (594 nm).

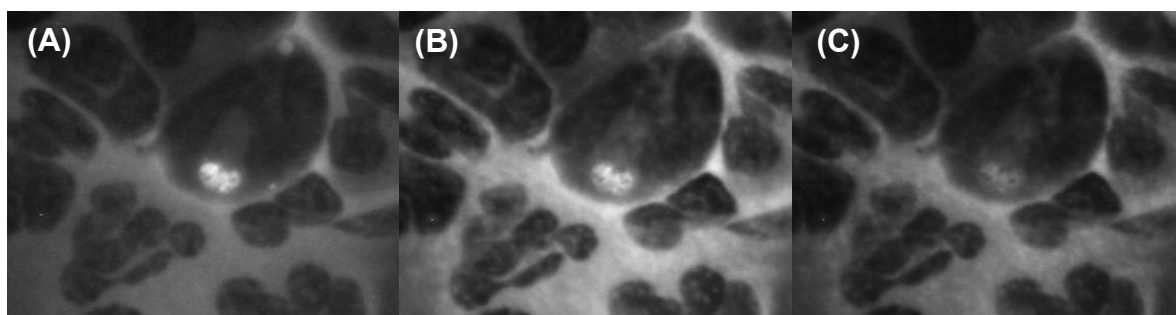


Figure 23 : Résultats d'autofluorescence d'une inclusion de type « *green granules of death* » dans un neutrophile de chien révélant une baisse d'intensité entre 305 nm et 594 nm.

A : résultat positif (305 nm), B : résultat positif (488 nm), C : résultat faiblement positif (594 nm).

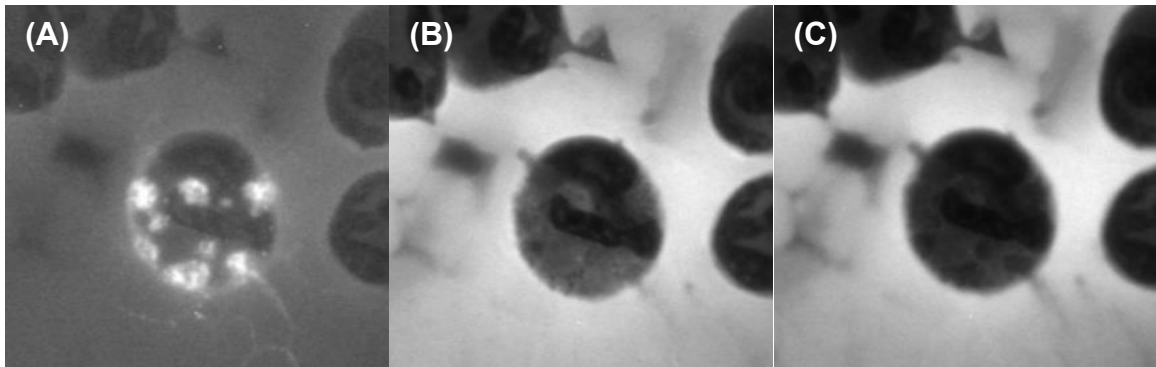


Figure 24 : Résultats d'autofluorescence d'une inclusion de type « *green granules of death* » dans un neutrophile de chien.

A : résultat positif (305 nm), B : résultat négatif (488 nm), C : résultat négatif (594 nm).

Nous n'avons pas réalisé de colorations spécifiques pour tous les cas. En effet, il était impossible de les réaliser sur les lames de frottis sanguins déjà colorées pour les cas sélectionnés de façon rétrospective. Nous n'en avons également pas réalisé en raison de la rareté des inclusions présentes sur les frottis pour l'ensemble des cas, notamment prospectifs.

Nous n'avons également pas réalisé d'examen de MET dans notre étude. Cela résulte d'un manque de moyens à disposition mais aussi de la rareté des inclusions observées sur les frottis déjà mentionnée, rendant la réalisation d'un tel examen difficile.

Les inclusions bleu-vert de type GGD ont toujours été observées en faible quantité sur les frottis sanguins de chiens et de chats dans notre étude. Nous n'avons pas proposé de « comptage » ou évaluation de la fréquence de ces inclusions au sein des leucocytes. Ce caractère rare rejoint les résultats de la plupart des études déjà disponibles. Une étude complémentaire, comme suggéré par Chen et al., évaluant le suivi de la proportion de cellules contenant des inclusions dans le temps pourrait être intéressante, afin d'évaluer si cet élément pourrait être à mettre en relation avec le pronostic. Il pourrait aussi être intéressant de suivre l'évolution de l'intensité de la coloration des inclusions bleu-vert de type GGD sur des frottis colorés au MGG, en fonction du temps. En effet, Chen et al. suggèrent qu'une augmentation de l'intensité de couleur pourrait être associée à un pronostic sombre, alors qu'une diminution de l'intensité pourrait être associée à un meilleur pronostic. Ce rapport de cas ayant été

publié très récemment et ne rapportant que deux cas étudiés, nous n'avons pas réalisé ce genre de suivi dans notre étude. Cela aurait notamment été impossible à réaliser pour nos cas sélectionnés rétrospectivement car pour des raisons financières, les examens de laboratoire sont souvent limités en médecine vétérinaire et donc les analyses hématologiques ne sont pas répétées quotidiennement. Cela aurait été également impossible pour des raisons médicales puisqu'un nombre non négligeable d'animaux sont malheureusement décédés rapidement après la détection des inclusions.

Les diagnostics ou les conditions cliniques associés à la présence de GGD sont variés dans notre étude. Il est difficile de dégager des tendances pour un certain type d'affection. Notons cependant que 5 chats sur 17 et 5 chiens sur 14 présentaient une affection hépatique primaire ou secondaire. 3 chats ont présenté des affections rénales dont 2 de type maladie rénale chronique. 6 chiens présentaient par ailleurs une affection néoplasique contre seulement 2 chats dans notre étude. Parmi ces animaux, 4 chiens (3 lymphomes, et 1 mastocytome) et 1 chat (lymphome) étaient sous chimiothérapie, et suspects de chimiotoxicité. La fréquence de chats présentant un SRIS est bien plus élevée (15/17 soit 88%) que chez les chiens (5/9 soit 56%), cependant nous manquons de données cliniques pour 5 chiens et nous n'avons pas pu déterminer s'ils présentaient un SRIS. Enfin, il est possible que toutes les affections présentes pour chaque cas, notamment ceux qui sont décédés rapidement, n'aient pas été diagnostiquées en raison d'un manque de temps ou de moyens pour réaliser des examens complémentaires.

La mortalité globale atteint des proportions élevées à la fois chez les chats (76%) et chez les chiens (86%), ce qui rejoint les observations qui ont déjà été faites en médecine humaine et vétérinaire. Par ailleurs, il est à noter que, dans notre étude, la totalité des chats décédés (13/17) sont morts avant 14 jours post-détection des inclusions sur le frottis sanguin (11/13 sont morts dans les 3 jours post-détection des inclusions), alors que chez le chien seulement 7/14 chiens décédés sont morts dans les 14 jours post-détection des inclusions sur le frottis sanguin. Concernant les animaux présentant un SRIS, tous les chiens ayant présenté un SRIS sont décédés (entre 0 et 85 jours post-détection des inclusions), alors que pour les chats, deux chats ayant présenté un SRIS (1 chat souffrant d'un fécalome et 1 chat accidenté) ont

survécu. Enfin, la mortalité ne semble pas être reliée à un type de diagnostic clinique en particulier pour les cas inclus dans notre étude.

La comparaison des données biologiques dans cette étude pose des difficultés en raison de la diversité des automates utilisés. En effet, ceux-ci sont multiples, et ce parfois pour une même variable. Bien que nous ayons essayé de nous extraire de l'effet automate en décrivant notamment la proportion de cas présentant des valeurs augmentées, diminuées ou dans l'intervalle de référence, et en présentant les facteurs d'augmentation ou de diminution par rapport aux bornes inférieures et supérieures des intervalles de référence, il n'a pas été possible de réaliser de statistiques quantitatives permettant de comparer ces valeurs. Pour cela, l'utilisation d'un seul et même automate par variable étudiée permettrait de comparer toutes les valeurs plus précisément. Cependant, pour réaliser une telle étude statistique, il faudrait réaliser une nouvelle étude prospective incluant un nombre bien plus important de cas.

Dans notre étude, les principales anomalies hématologiques qui se dégagent sont la présence fréquente d'un leucogramme « inflammatoire », et plus occasionnellement d'une anémie et/ou d'une thrombopénie. Au niveau des données biochimiques, une augmentation de l'activité des ALAT et plus ou moins des ASAT, reflétant un contexte de lésions hépatocellulaires (pouvant être primaires ou secondaires selon les cas de notre étude), est fréquemment rapportée dans notre étude : chez tous les chiens (ALAT : 12/12 ; ASAT : 9/10) et de nombreux chats (ALAT : 10/15 ; ASAT : 7/7). On rapporte également une augmentation fréquente de l'activité des PAL (10/12) chez le chien pouvant refléter une cholestase dans certains cas et/ou surtout une induction liée à un stress corticoïde (pouvant entre autres être lié à une maladie chronique concomitante et/ou une corticothérapie), étant donnée la fréquence moindre d'augmentation de l'activité des GGT et de la bilirubine chez les chiens inclus dans notre étude. Chez les chats inclus dans notre étude, une augmentation de l'activité des PAL et GGT a parfois été observée (4/15 vs. 7/15) et associée à un possible contexte de cholestase et/ou lipidose. L'hyperbilirubinémie a été fréquemment observée chez les chats (10/15) et plus modérément chez les chiens (5/10) de notre étude, celle-ci pouvant être liée à un ictère hépatique, post-hépatique voire plus occasionnellement pré-hépatique selon les cas. L'hyperlactatémie largement répandue dans les cas répertoriés est à rapprocher de la présence d'affections graves et de l'état critique. Dans notre étude, les affections rencontrées

sont variées et également souvent graves, il n'est donc pas étonnant d'observer une hyperlactatémie. Toutes ces données rejoignent les observations faites en médecine humaine et vétérinaire (Harris et al. 2009; Jazaerly, Gabali 2014; Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017; Haberichter, Crisan 2017; Courville et al. 2017; Gorup et al. 2018; Abraham, V. Cotta, Lichtin 2018; Sin et al. 2019; Soos et al. 2019; Cantu et al. 2020; McGinnis, Smith 2020; Merino et al. 2021; Shackleton et al. 2021; Martins et al. 2022; Rivera et al. 2022; Li et al. 2022; Jiang et al. 2023; Long et al. 2023; Chen et al. 2024; Sebastian, Lucidi, Scott 2024).

Malgré la présence de ces anomalies, il n'a pas été possible de faire ressortir des facteurs pronostiques péjoratifs en raison du faible nombre d'animaux au total, et dans chacun des groupes « animaux morts » vs. « animaux survivants ». Notre étude constitue simplement une base descriptive des données recueillies et ne saurait prouver de corrélation entre la mortalité, les anomalies hématologiques et/ou biochimiques ou le diagnostic, et la présence d'inclusions bleu-vert sur le frottis sanguin. L'étude des transaminases hépatiques n'a pas permis de révéler de tendances (dans la limite des résultats obtenus et du nombre de cas étudiés), si ce n'est que les chiens présentant les activités des ALAT les plus élevées ($> 900\text{UI/L}$) sont tous décédés le jour même de la détection des inclusions sur le frottis. Concernant l'hyperlactatémie qui est bien étudiée en médecine humaine, il est à noter qu'une hyperlactatémie marquée chez le chat ($>4\text{ mmol/L}$) et le chien ($>5\text{ mmol/L}$) a été observée chez des animaux décédés rapidement après la détection des inclusions bleu-vert sur leur frottis sanguin dans notre étude. Une analyse de la cinétique des différentes variables n'a pas pu être réalisée du fait de la sélection de cas rétrospectifs mais aussi en raison de l'aspect financier freinant la répétition quotidienne d'analyses biochimiques, exceptée pour des variables liées à des mesures thérapeutiques (notamment les électrolytes). Nous n'avons donc pas pu établir si la détection des GGD correspondait, comme en médecine humaine (Hodgson et al. 2015; Patel et al. 2017; Cantu et al. 2020; Jiang et al. 2023; Chen et al. 2024) et probablement également chez le chien, au pic d'augmentation des marqueurs de cytolyse hépatique (ASAT et ALAT notamment) à quelques heures près chez le chat.

Enfin, une des limites de notre étude est l'absence d'autopsies ou de biopsies. Ces examens auraient permis, entre autres, d'affiner les diagnostics des animaux inclus dans notre étude et d'évaluer objectivement la présence d'un lésionnel

hépatique et de le caractériser plus précisément. Le choix de réaliser une autopsie dépend des propriétaires des animaux. Dans un contexte d'admission aux services d'urgences-soins intensifs ou d'oncologie, et même plus généralement, il est rare que cet examen soit demandé si l'animal décède. De plus, la réalisation de biopsies sur des animaux dont l'état est critique est délicate en raison des risques qu'un tel examen présente sur des animaux instables. Comme mentionné précédemment, une grande proportion d'animaux présentait notamment un SRIS (15 chats et au moins 5 chiens). Il aurait été intéressant de déterminer de quelles lésions souffraient ces animaux, notamment au niveau du foie.

Conclusion

Cette étude a documenté tous les cas de chiens et de chats qui ont présenté des inclusions bleu-vert de type GGD sur le frottis sanguin à l'ENVT depuis 2021. Les caractéristiques morphologiques en microscopie optique sont similaires à celles rapportées en médecine humaine et plus récemment en médecine vétérinaire chez le chien. Le caractère autofluorescent, déjà rapporté dans une étude chez le chien, a permis de sélectionner les cas de notre étude et de montrer que ces inclusions bleu-vert présentent des caractéristiques très similaires à la lipofuscine que ce soit chez le chien ou le chat. Nous avons décrit le plus précisément possible les profils cliniques et clinico-pathologiques des animaux concernés par de telles inclusions. Bien que cette étude présente des limites, elle constitue une base de données descriptives permettant de préciser le contexte d'apparition d'inclusions bleu-vert de type GGD. C'est aussi la première étude qui propose, à ce jour, une étude de ces inclusions chez le chat.

La détection des inclusions bleu-vert de type GGD semble être fréquemment associée à un lésionnel hépatique et/ou hépatobiliaire chez le chien et le chat, mais aussi surtout associée à un risque de mortalité à court terme élevé. Toutefois, tous les animaux ayant présenté ces inclusions sur leur frottis sanguin ne sont pas décédés. Le nombre limité de cas dans notre étude, lié à la rareté de la présence de ces inclusions sur le frottis sanguin, ne nous a pas permis de mettre en évidence d'éventuels facteurs pronostiques péjoratifs clairs.

Davantage de cas seraient nécessaires pour tenter de préciser ce que la détection d'inclusions bleu-vert de type GGD sur le frottis sanguin de chiens et de chats implique d'un point de vue clinique et pronostic. En envisageant que tous les cas de chiens et de chats présentant une telle anomalie soient documentés dans le futur, nous pourrions constituer une base de données solide, et tenter de réaliser des études statistiques vis-à-vis du diagnostic et du pronostic. Ceci pourrait permettre, comme suggéré en médecine humaine, d'éventuellement favoriser une détection plus précoce d'affections pathologiques graves en cours d'évolution (hépatiques notamment) et de mieux anticiper et traiter les animaux concernés.

Bibliographie

- ABRAHAM, Annette, V. COTTA, Claudiu et LICHTIN, Alan E., 2018. Green inclusions in neutrophils—a case report and review of literature. *Journal of Hematopathology*. mars 2018. Vol. 11, n° 1, pp. 1-3. DOI 10.1007/s12308-017-0312-0.
- BOWEN, Rebecca Katrina et KOUTSAVLIS, Ioannis, 2020. The rare green-blue neutrophil inclusion bodies. Worth reporting in blood films? A case of a patient with polytrauma. *Clinical Case Reports*. décembre 2020. Vol. 8, n° 12, pp. 3548-3549. DOI 10.1002/ccr3.3105.
- CANTU, Miguel D., TOWNE, William S., EMMONS, Foxwell N., MOSTYKA, Maria, BORCZUK, Alain, SALVATORE, Steven P., YANG, He S., ZHAO, Zhen, VASOVIC, Ljiljana V. et RACINE-BRZOSTEK, Sabrina E., 2020. Clinical significance of blue-green neutrophil and monocyte cytoplasmic inclusions in SARS-CoV-2 positive critically ill patients. *British Journal of Haematology*. 2020. Vol. 190, n° 2, pp. e89-e92. DOI 10.1111/bjh.16882.
- CHEN, Junkun, HUANG, Ming, LI, Guo et ZHANG, Chi, 2024. Comparative analysis of the color change in blue-green inclusions within neutrophils between two patients with different clinical outcomes. *Biochemia medica*. 15 octobre 2024. Vol. 34, n° 3, pp. 494-502. DOI 10.11613/BM.2024.030801.
- COURVILLE, Elizabeth L., CRISMAN, Susan, LINDEN, Michael A. et YOHE, Sophia, 2017. Green Neutrophilic Inclusions are Frequently Associated With Liver Injury and May Portend Short-Term Mortality in Critically Ill Patients. *Laboratory Medicine*. février 2017. Vol. 48, n° 1, pp. 18-23. DOI 10.1093/labmed/lmw064.
- CROCE, Anna Clea, FERRIGNO, Andrea, BOTTIROLI, Giovanni et VAIRETTI, Mariapia, 2018. Autofluorescence-based optical biopsy: An effective diagnostic tool in hepatology. *Liver International*. 2018. Vol. 38, n° 7, pp. 1160-1174. DOI 10.1111/liv.13753.
- DIENSTMANN, Guilherme, COMAR, Samuel Ricardo, SOUZA, Matheus Leite Ramos de, RUARO, Graziela et LEITE, Luiz Arthur Calheiros, 2020. Critical blue-green inclusions in neutrophil and monocyte cytoplasm in a healthy patient affected by COVID-19. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. 2020. Vol. 42, n° 4, pp. 318-319. DOI 10.1016/j.htct.2020.06.008.

GORUP, Tina, COHEN, Andrea T., SYBENGA, Amelia B. et RAPPAPORT, Edward S., 2018. Significance of green granules in neutrophils and monocytes. *Baylor University Medical Center Proceedings*. 2 janvier 2018. Vol. 31, n° 1, pp. 94-96. DOI 10.1080/08998280.2017.1391045.

HABERICHTER, Kristle L. et CRISAN, Domnita, 2017. Green Neutrophilic Inclusions and Acute Hepatic Failure: Clinical Significance and Brief Review of the Literature. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 1 janvier 2017. Vol. 47, n° 1, pp. 58-61.

HARRIS, V N, MALYSZ, J et SMITH, M D, 2009. Green neutrophilic inclusions in liver disease. *Journal of Clinical Pathology*. 1 septembre 2009. Vol. 62, n° 9, pp. 853-854. DOI 10.1136/jcp.2009.064766.

HODGSON, Timothy O., RUSKOVA, Anna, SHUGG, Clare J., MCCALLUM, Vivian J. et MORISON, Ian M., 2015. Green neutrophil and monocyte inclusions – time to acknowledge and report. *British Journal of Haematology*. juillet 2015. Vol. 170, n° 2, pp. 229-235. DOI 10.1111/bjh.13434.

JAZAERLY, Tarek et GABALI, Ali M., 2014. Green neutrophilic inclusions could be a sign of impending death! *Blood*. 30 janvier 2014. Vol. 123, n° 5, pp. 614-614. DOI 10.1182/blood-2013-10-535856.

JIANG, Wei, HUANG, Ming, CHEN, Jiao-Hua, FEI, Yang et ZHANG, Chi, 2023. A case of neutrophil blue–green inclusions in severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2023. Vol. 45, n° 5, pp. 774-777. DOI 10.1111/ijlh.14056.

LI, Zuojie, YE, Chunmei, CHEN, Yanxia et LIU, Jinlin, 2022. Neutrophils with bright green inclusions in a patient with chest pain. *International Journal of Laboratory Hematology*. décembre 2022. Vol. 44, n° 6, pp. 1019-1020. DOI 10.1111/ijlh.13939.

LONG, Fang, LI, Ting, MENG, Lingsheng, YU, Jiadong, MENG, Aichun et ZHANG, Yun, 2023. A neonatal case of concurrent *Enterobacter cloacae* bacteremia and green neutrophil inclusions on peripheral blood smear. *Pediatric Blood & Cancer*. 2023. Vol. 70, n° 11, pp. e30587. DOI 10.1002/pbc.30587.

MARTINS, Naira Neves Neto, JARDIM, Letícia Lemos, PEREIRA, Leonardo Soares, REZENDE, Suely Meireles et GONÇALVES, Marcelo Luide Pereira, 2022. Blue-green

cytoplasmic inclusions in neutrophils/monocytes of patients with yellow fever. *International Journal of Laboratory Hematology* [en ligne]. août 2022. Vol. 44, n° 4. [Consulté le 19 février 2024]. DOI 10.1111/ijlh.13827. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.13827>

MARY M. CHRISTOPHER DVM, PHD et O'NEILL, Sharron, 2000. Effect of Specimen Collection and Storage on Blood Glucose and Lactate Concentrations in Healthy, Hyperthyroid and Diabetic Cats. *Veterinary Clinical Pathology*. mars 2000. Vol. 29, n° 1, pp. 22-28. DOI 10.1111/j.1939-165X.2000.tb00393.x.

MCGINNIS, Eric et SMITH, Tyler W., 2020. Clostridium perfringens sepsis with spherocytosis and green neutrophil inclusions. *British Journal of Haematology*. 2020. Vol. 190, n° 5, pp. 641-641. DOI 10.1111/bjh.16784.

MCMICHAEL, Maureen A., LEES, George E., HENNESSEY, Jennifer, SANDERS, Mary et BOGGESS, May, 2005. Serial plasma lactate concentrations in 68 puppies aged 4 to 80 days. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. mars 2005. Vol. 15, n° 1, pp. 17-21. DOI 10.1111/j.1534-6935.2005.04026.x.

MERINO, Anna, MOLINA, Angel, RODRÍGUEZ-GARCÍA, María, VICENTE-STEIJN, Rebecca, TOMÉ, Adriá, MADUELL, Francisco, XIPELL, Marc et CASTRO, Pedro, 2021. Detection and significance of green inclusions in peripheral blood neutrophils and monocytes. *International Journal of Laboratory Hematology* [en ligne]. avril 2021. Vol. 43, n° 2. [Consulté le 18 février 2024]. DOI 10.1111/ijlh.13421. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.13421>

PATEL, Nisha, HOFFMAN, Corey M., GOLDMAN, Bruce I., BENTLEY, Karen, BURACK, W. Richard et EVANS, Andrew G., 2017. Green Inclusions in Neutrophils and Monocytes Are an Indicator of Acute Liver Injury and High Mortality. *Acta Haematologica*. 2017. Vol. 138, n° 2, pp. 85-90. DOI 10.1159/000477794.

RAND, Jacqueline S., KINNAIRD, Emily, BAGLIONI, Anthony, BLACKSHAW, Judith et PRIEST, Jan, 2002. Acute Stress Hyperglycemia in Cats Is Associated with Struggling and Increased Concentrations of Lactate and Norepinephrine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. mars 2002. Vol. 16, n° 2, pp. 123-132. DOI 10.1111/j.1939-1676.2002.tb02343.x.

RIVERA, Antonio Sierra, VALDELVIRA, María García, MARTÍNEZ, María A. Elia, MARTÍ, Ángeles Férez et BENITO, Goitzane Marcaida, 2022. Blue-green neutrophilic inclusion bodies with concurrent liver failure as a predictor of imminent death. *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*. 1 septembre 2022. Vol. 3, n° 3, pp. 295-298. DOI 10.1515/almed-2022-0060.

SEBASTIAN, Kimberley N., LUCIDI, Cynthia A. et SCOTT, Michael A., [sans date]. Characterization of blue-green blood leukocyte inclusions and accompanying clinical, hematologic, and serum biochemical changes in dogs. *Veterinary Clinical Pathology* [en ligne]. Vol. n/a, n° n/a. [Consulté le 27 mai 2024]. DOI 10.1111/vcp.13348. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vcp.13348>

SEEHAFER, Sabrina S et PEARCE, David A, 2006. You say lipofuscin, we say ceroid: Defining autofluorescent storage material. *Neurobiology of Aging*. avril 2006. Vol. 27, n° 4, pp. 576-588. DOI 10.1016/j.neurobiolaging.2005.12.006.

SHACKLETON, Louisa, MELOTTI, Dario, LEDDY, Catherine, GLAVEY, Siobhan, THORNTON, Patrick et QUINN, John, 2021. Green neutrophilic inclusions in meningococcal sepsis. *International Journal of Laboratory Hematology* [en ligne]. avril 2021. Vol. 43, n° 2. [Consulté le 18 février 2024]. DOI 10.1111/ijlh.13422. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.13422>

SIN, Eric, KORUS, Adam J, PATTERSON, Alexandra et PSEVDOS, George, 2019. An unanticipated finding on peripheral smear: Blue-green crystals of impending death? *American Journal of Hematology*. 2019. Vol. 94, n° 6, pp. 733-734. DOI 10.1002/ajh.25286.

SOOS, Michael P., HEIDEMAN, Caroline, SHUMWAY, Cameron, CHO, Min, WOOLF, Andrew et KUMAR, Chintalapudi, 2019. Blue-green neutrophilic inclusion bodies in the critically ill patient. *Clinical Case Reports*. juin 2019. Vol. 7, n° 6, pp. 1249-1252. DOI 10.1002/ccr3.2196.

VERBRUGH, H A, PETERS, R, PETERSON, P K et VERHOEF, J, [sans date]. Phagocytosis and killing of staphylococci by human polymorphonuclear and mononuclear leucocytes. .

VICENTE-STEIJN, Rebecca, TOMÉ, Adriá, MADUELL, Francisco, XIPELL, Marc, CASTRO, Pedro, MOLINA, Angel et MERINO, Anna, 2020. Green inclusions in neutrophils: A critical finding that must be reported. *International Journal of Laboratory Hematology*

[en ligne]. juin 2020. Vol. 42, n° 3. [Consulté le 19 février 2024]. DOI 10.1111/ijlh.13138.
Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.13138>

YANG, Jay et GABALI, Ali, 2018. Green neutrophilic inclusions: current understanding and review of literature. *Current Opinion in Hematology*. janvier 2018. Vol. 25, n° 1, pp. 3-6. DOI 10.1097/MOH.0000000000000392.

YIN, Dazhong, 1996. Biochemical basis of lipofuscin, ceroid, and age pigment-like fluorophores. *Free Radical Biology and Medicine*. janvier 1996. Vol. 21, n° 6, pp. 871-888. DOI 10.1016/0891-5849(96)00175-X.

ZHANG, Yun, ZHENG, Jie, MA, Chunqing, XING, Bo et LI, Ting, 2023. Green inclusions in peripheral blood neutrophils of a patient with *Pandoraea apista* bacteraemia. *British Journal of Haematology*. 2023. Vol. 200, n° 4, pp. 397-397. DOI 10.1111/bjh.18556.

Annexes

Annexe 1 : Informations concernant le signalement et les données cliniques des chats de l'étude.

CT	Race	Sexe	Age (années)	Motif d'admission	Antécédents	SRIS	Diagnostic final	Issue clinique (nombre de jour après détection des GGD)
1	Européen	MC	18	Abattement, anorexie, plaie membre postérieur gauche avec myases	-	Oui	Plaie supprimée compliquée par des myases, MRC et myocardiopathie	Euthanasie (jour 8)
2	Européen	FS	11	Abattement, amaigrissement chronique, PuPd, anorexie, décubitus latéral	-	Oui	IRA sur fond probable de MRC bilatérale	Euthanasie (jour 2)
3	Européen	MC	5	Détresse respiratoire, abattement, dysoro-anorexie, amaigrissement, hyperthermie	Gingivite	Oui	Péritonite focale, ictère hépatique	Euthanasie (jour 0)
4	Croisé Maine coon	FS	9	Abattement, anorexie, ictère	-	Oui	Ictère hépatique	Euthanasie (jour 0)
5	Européen	FS	10	Abattement, hyperthermie, anorexie, troubles respiratoires, amaigrissement	-	Oui	Détresse respiratoire d'aggravation rapide de cause indéterminée, hyperthermie Cholélithiases et cholécystite chronique évolutive sévère	Décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 0)
6	Européen	FS	9	Vomissements d'apparition aiguë, abattement	-	Non		Vivant
7	Européen	MC	5	Traumatisme (chute)	-	Oui	Chute du 4ème étage	Vivant
8	Européen	M	15	Vomissements aigus, abattement, respiration bouche ouverte, contexte de lymphome digestif de haut grade traité par chimiothérapie	Lymphome digestif de haut grade	Oui	Lymphome digestif à grains de haut grade de stade 5 / chimiotoxicité (doxorubicine)	Décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 0)
9	Européen	F	2	Abattement, anorexie, adipsie, malpropreté	Infections régulières des coussinets Cholécystite bactérienne (souche hémolytique de <i>Escherichia Coli</i>), entéropathie versus lymphome digestif non caractérisé	Non	Anémie hémolytique à médiation immune	Vivant
10	Européen	FS	14	Dysoro-anorexie, incontinence fécale et urinaire, abattement dans un contexte de cholécystite bactérienne diagnostiquée 1 semaine avant		Oui	Septicémie dans un contexte de triade féline	Euthanasie (jour 2)
12	Européen	MC	10	Abattement, anorexie, tachypnée, contexte de mastocytome de stade IV	Mélanocytome, mastocytome cutané de stade IV	Oui	Mastocytome de stade IV avec épanchement pleural néoplasique	Décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 0)

CT	Race	Sexe	Age (années)	Motif d'admission	Antécédents	SRIS	Diagnostic final	Issue clinique (nombre de jour après détection des GGD)
13	Européen	MC	12	Baisse d'état général, tachypnée, hyperthermie, boiterie/parésie membre thoracique gauche, amaigrissement chronique, toux, ataxie, PuPd	-	Oui	Pleurésie et abcès pulmonaires	Euthanasie (jour 1)
14	Européen	M	9	Diabète acido-cétosique (référé)	-	Oui	Insuffisance rénale aiguë oligoanurique, DAC	Décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 0)
15	Européen	FS	13	Abattement, décubitus latéral, anorexie, adipsie, amaigrissement	Diabète sucré	Oui	DAC	Décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 0)
16	Européen	FS	3	Constipation, anorexie	Souffle cardiaque, épisodes d'impaction fécale récidivants, para-parésie depuis l'adoption	Oui	Fécalome	Vivant
17	Européen	MC	3	Référé pour transfusion sur rechute anémie hémolytique à médiation immune (abattement, anorexie)	Anémie hémolytique à médiation immune	Oui	Rechute anémie hémolytique à médiation immune	Sortie, décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 6)

CT : chat, SRIS : syndrome de réponse inflammatoire systémique, GGD : green granules of death, F : femelle, FS : femelle stérilisée, M : mâle, MC : mâle castré, MRC : maladie rénale chronique, IRA : insuffisance rénale aiguë, DAC : diabète acido-cétosique, PuPd : polyuro-polydipsie

Annexe 2 : Informations concernant le signalement et les données cliniques des chiens de l'étude.

CN	Race	Sexe	Age	Motif d'admission	Antécédents	SRIS	Diagnostic final	Issue clinique (nombre de jour après détection des GGD)
1	Chow Chow	F	4	Efforts vomitifs improductifs, dilatation de l'abdomen	-	Oui	SDTE	Décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 0)
2	Bouledogue français	F	12	Anorexie, adipsie, hyperthermie, éternuements chroniques, contexte de mastocytome cutané (chimiothérapie)	Mastocytome cutané	Non	Suspicion de bronchopneumonie, ictere hépatique, ulcères digestifs suspectés	Décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 7)
3	Jack Russel Terrier	MC	11	Dysorexie, abattement et vomissements	Hypocorticisme hypophysaire, ITU	Oui	Pancréatite aiguë	Euthanasie (jour 0)
4	Beauceron	M	12	Suspicion tamponnade cardiaque, contexte de masse cardiaque	Sarcome intestinal, masse aortique, syncopes	-	Insuffisance cardiaque décompensée, masse cardiaque et masse colique	Euthanasie (jour 0)
5	Berger belge malinois	M	9	Lymphome T de haut grade	Lymphome	-	Lymphome T de haut grade, hypercalcémie paranéoplasique	Sortie, décès de cause inconnue (jour 06)
6	Cane Corso	M	13	Lymphome de haut grade	Hémangiome (splénectomie), lymphome	-	Lymphome T de haut grade / chimiotoxicité	Sortie, euthanasie (jour 21)
7	Rottweiler	M	8	Référé pour ascite	-	Non	Tumeur à cellules rondes d'origine digestive (lymphome, sarcome histocytaire, ...)	Sortie, décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 9)
8	Shetland	MC	8	Séance de chimiothérapie lymphome de haut grade	-	-	Lymphome T multicentrique de haut grade	Sortie, décès de cause inconnue (jour 218)
9	Bouledogue français	M	11	Crises convulsives groupées	Hyperplasie de la prostate	Non	Accident ischémique cérébelleux, suspicion de tumeur hépatique	Sortie, euthanasie (jour 37)
10	Berger Allemand	MC	12	Abattement aigu, hyperthermie, vomissements, douleur abdominale	Leishmanniose, colite chronique, hernie périméale récidivante, SDTE	Non	Cholécystite bactérienne, cholangio-hépatite et pancréatite secondaires, translocation bactérienne et suspicion d'endocardite bactérienne	Vivant
11	Croisé border collie et berger australien	M	3	CIVD et défaillance multi-organique secondaire à un coup de chaleur	-	Oui	Coup de chaleur	Euthanasie (jour 0)
12	Golden Retriever	MC	8	Carcinome thymique stade 4 (métastases hépatiques)	Carcinome thymique	-	Carcinome thymique de stade 4 (métastases hépatiques)	Vivant

CN	Race	Sexe	Age	Motif d'admission	Antécédents	SRIS	Diagnostic final	Issue clinique (nombre de jour après détection des GGD)
13	Croisé Beagle	MC	8	Abattement, congestion des muqueuses, tachycardie	Mastocytome cutané de stade 4 de haut grade, infiltration hépatique	Oui	Toxoplasmose systémique / chimiotoxicité (lomustine)	Sortie, euthanasie (jour 85)
14	Carlin	FS	10	Anorexie, abattement et tremblements, contexte de mastocytome cutané de stade 3	Mastocytome cutané de stade 3	Oui	Choc septique dans un contexte de neutropénie sévère secondaire à la chimiothérapie	Décès par arrêt cardio-respiratoire (jour 1)

CN : chien, SRIS : syndrome de réponse inflammatoire systémique, GGD : green granules of death, F : femelle, FS : femelle stérilisée, M : mâle, MC : mâle castré, ITU, infection du tractus urinaire, SDTE : syndrome de dilatation torsion de l'estomac

Annexe 3 : Variables hématologiques obtenues par les automates d'hématologie pour 17 chats (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Sysmex XN-1000V[®], identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Procyte Dx[®]).

ANALYTES																	
CT	RBC-O (x10 ⁹ /µL)	HCT (%)	HGB (g/dL)	VGM (fL)	TCMH (pg)	CCMH (g/dL)	IDR (%)	RET ^a (%)	T _c (%)	WBC (x10 ³ /µL)	NEUT ^b (x10 ³ /µL)	Band cells ^b (x10 ³ /µL)	LYMPH ^b (x10 ³ /µL)	MONO ^b (x10 ³ /µL)	EOSI ^b (x10 ³ /µL)	BASO ^b (x10 ³ /µL)	PLT-O (x10 ³ /µL)
<u>1</u>	7.44	33.3	10.5	44.8	14.1	31.5	23.3	-	-	23.63	16.30	2.36	5.91	0.71	0.47	0.24	70
<u>2</u>	8.11	30.0	10.4	37.0	12.8	34.7	20.3	-	-	8.16	8.00	0.16	0.24	0.00	0.00	0.08	395
<u>3</u>	9.13	48.0	13.8	52.6	15.1	28.8	24.4	-	-	13.05	11.35	4.57	1.70	0.00	0.00	0.00	43
<u>4</u>	10.70	46.1	14.9	43.1	13.9	32.3	21.2	-	-	10.55	8.33	0.00	0.00	2.22	0.00	0.00	54
<u>5</u>	8.37	33.0	10.9	39.4	13.0	33.0	23.2	-	-	20.92	19.25	0.84	1.67	0.00	0.00	0.00	69
<u>6</u>	9.54	39.5	14.7	41.4	15.4	37.2	19.2	-	-	11.84	11.01	0.12	0.24	0.47	0.00	0.12	232
<u>7</u>	7.59	34.0	12.0	44.8	15.8	35.3	16.2	-	-	30.84	29.61	5.86	0.62	0.62	0.00	0.00	227
<u>8</u>	2.61	12.1	3.6	46.4	13.8	29.8	29.5	1.8	0.6	7.88	7.33	0.16	0.08	0.32	0.00	0.00	221
<u>9</u>	2.45	15.7	6.4	64.1	26.1	32.0	23.4	3.4	1.9	27.30	21.02	2.46	2.18	4.10	0.00	0.00	6
<u>10</u>	4.34	15.3	5.2	35.3	12.0	34.0	19.2	1.8	0.8	15.38	15.07	3.08	0.31	0.00	0.00	0.00	357
<u>11</u>	11.47	41.2	15.0	35.9	13.1	36.4	22.6	-	-	6.48	4.08	0.45	1.88	0.13	0.32	0.06	227
<u>12</u>	3.88	16.4	4.9	42.3	12.6	29.9	25.5	0.5	0.2	5.50	3.52	0.11	0.99	0.94	0.06	0.00	24
<u>13</u>	7.07	23.1	7.6	32.7	10.7	32.9	22.7	0.1	0.1	32.32	28.12	0.65	1.29	2.59	0.32	0.00	265
<u>14</u>	11.11	48.6	17.6	43.7	15.8	36.2	28.4	-	-	11.69	10.64	1.17	0.58	0.23	0.12	0.12	220
<u>15</u>	7.76	26.8	11.2	34.5	14.4	41.8	30.2	1.7	1.3	10.31	7.42	0.31	0.72	1.96	0.31	0.00	545
<u>16</u>	7.28	29.3	10.9	40.2	15.0	37.2	26.1	-	-	37.00	25.16	1.48	5.55	5.18	1.11	0.00	213
<u>17</u>	1.34	6.3	2.2	47.0	16.4	34.9	17.4	1.0	0.2	20.62	15.05	0.41	4.33	1.24	0.00	0.00	31

Intervalle de référence (se référer aux unités données dans le tableau, IR des T_c, des band cells et des BASO non connus) :

- Sysmex XN-1000V[®] : RBC-O : [6.60 – 10.80], HCT : [29.0 – 51.0], HGB : [9.91 – 16.59], VGM : [34.4 – 49.3], TCMH : [12.3 – 16.4], CCMH : [32.5 – 39.2], IDR : [19.7 – 29.3], WBC : [4.00 – 15.20], NEUT : [1.70 – 8.80], LYMPH : [1.20 – 10.20], MONO : [0.10 – 0.60], EOSI : [0.10 – 1.20], PLT-O : [87 – 610]
- Procyte Dx[®] : RBC-O : [6.54 – 12.20], HCT : [30.3 – 52.3], HGB : [9.8 – 16.2], VGM : [35.9 – 53.1], TCMH : [11.8 – 17.3], CCMH : [28.1 – 35.8], IDR : [15.0 – 27.0], WBC : [2.87 – 17.02], NEUT : [2.30 – 10.29], LYMPH : [0.92 – 6.88], MONO : [0.05 – 0.67], EOSI : [0.17 – 1.57], PLT-O : [151 – 600]

En **rouge**, valeur augmentée par rapport à la borne supérieure de l'intervalle de référence. En **bleu**, valeur diminuée par rapport à la borne inférieure de l'intervalle de référence.
^a : réticulocytes comptés manuellement parmi 1000 globules rouges pour les chats anémisés uniquement, pas d'intervalle de référence connu pour ces valeurs

^b : les valeurs présentées sont celles correspondant au pourcentage de chaque population leucocytaire observée sur le frottis sanguin, rapporté au nombre total de leucocytes (WBC) obtenu avec l'analyseur. Valeurs arrondies à la deuxième décimale.

CT : chat, RBC : numération totale en hématies, HCT : hématocrite, HGB : hémoglobine, VGM : volume globulaire moyen, TCHM : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, IDR : indice de distribution des globules rouges, RET : réticulocytes, T_c : taux corrigé de réticulocytes, WBC : numération totale leucocytaire, NEUT : neutrophiles, LYMPH : lymphocytes, MONO : monocytes, EOSI : éosinophiles, BASO : basophiles, PLT : plaquettes

Annexe 4 : Variables hématologiques obtenues par les automates d'hématologie pour 14 chiens (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Sysmex XN-1000V[®], identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Procyte Dx[®]).

ANALYTES																	
CN	RBC-I (x10 ⁶ /µL)	HCT (%)	HGB (g/dL)	VGM (fL)	TCMH (pg)	CCMH (g/dL)	IDR (%)	RET (x10 ³ /µL)	T _c (%)	WBC (x10 ³ /µL)	NEUT ^a (x10 ³ /µL)	Band cells ^a (x10 ³ /µL)	LYMPH ^a (x10 ³ /µL)	MONO ^a (x10 ³ /µL)	EOSI ^a (x10 ³ /µL)	BASO ^a (x10 ³ /µL)	PLT ^b (x10 ³ /µL)
1	3.47	23.5	7.2	67.7	20.7	30.6	13.0	19.4	0.3	5.62	4.50	1.69	0.90	0.17	0.06	0.00	88
2	5.28	34.1	11.9	64.6	22.5	34.9	16.8	52.3	0.8	10.62	10.51	0.32	0.00	0.11	0.00	0.00	15
3	6.51	44.0	15.4	67.6	23.7	35.0	16.9	63.8	-	15.87	15.71	4.13	0.00	0.16	0.00	0.00	229
4	6.51	40.3	14.5	61.9	22.3	36.0	14.7	54.7	-	14.12	13.41	1.27	0.14	0.56	0.00	0.00	94
5	6.60	41.1	13.8	62.3	20.9	33.6	18.5	21.8	-	8.01	7.13	0.00	0.24	0.88	0.00	0.00	167
6	4.48	31.9	11.1	71.2	24.8	34.8	13.1	37.6	0.6	40.10	35.29	1.20	0.40	4.41	0.00	0.00	201
7	3.62	23.3	8.1	64.4	22.4	34.8	19.1	296.5	4.4	28.26	21.20	0.00	1.41	0.85	1.98	2.83	106*
8	5.39	34.7	12.0	64.4	22.3	34.6	16.3	19.4	-	5.38	4.14	0.00	0.33	0.91	0.00	0.00	403
9	4.16	27.8	9.1	66.8	21.9	32.7	20.4	341.5	5	18.08	16.27	0.18	1.45	0.18	0.18	0.00	58*
10	6.57	44.2	16.5	67.3	25.1	37.3	15.5	23.0	-	15.51	13.80	1.71	0.31	1.40	0.00	0.00	108
11	10.44	63.2	22.1	60.5	21.2	35.0	18.5	35.5	-	13.71	11.38	0.27	1.37	0.96	0.00	0.00	14
12	4.46	32.7	10.9	73.3	24.4	33.3	24.2	392.0	6.3	53.19	46.81	4.79	3.72	2.66	0.00	0.00	347
13	5.78	41.0	15.3	70.9	26.5	37.3	14.6	34.1	-	1.21	0.15	0.12	0.18	0.73	0.16	0.00	154
14	4.91	34.6	12.4	70.5	25.3	35.8	13.5	54.5	-	1.54	0.40	0.29	0.86	0.26	0.02	0.00	163

Intervalles de référence (se référer aux unités données dans le tableau, IR des T_c, des band cells et des BASO non connus) :

- Sysmex XN-1000V[®] : RBC-I : [5.20 – 7.90], HCT : [35.0 – 52.0], HGB : [12.4 – 19.2], VGM : [60.0 – 71.0], TCMH : [21.9 – 26.3], CCMH : [34.4 – 38.1], IDR : [13.2 – 19.1], RET : [19.4 – 150.1], WBC : [5.60 – 20.40], NEUT : [2.90 – 13.60], LYMPH : [1.10 – 5.30], MONO : [0.40 – 1.60], EOSI : [0.10 – 1.50], PLT-O : [108 – 562]

- Procyte Dx[®] : RBC-I : [5.65 – 8.87], HCT : [37.3 – 61.7], HGB : [13.1 – 20.5], VGM : [61.6 – 73.5], TCMH : [21.2 – 25.9], CCMH : [32.0 – 37.9], IDR : [13.6 – 21.7], RET : [10.0 – 110.0], WBC : [5.05 – 16.76], NEUT : [2.95 – 11.64], LYMPH : [1.05 – 5.10], MONO : [0.16 – 1.12], EOSI : [0.06 – 1.23], PLT-I : [148 – 484]

En **rouge**, valeur augmentée par rapport à la borne supérieure de l'intervalle de référence. En **bleu**, valeur diminuée par rapport à la borne inférieure de l'intervalle de référence. a : les valeurs présentées sont celles correspondant au pourcentage de chaque population leucocytaire observée sur le frottis sanguin, rapporté au nombre total de leucocytes (WBC) obtenu avec l'analyseur. Valeurs arrondies à la deuxième décimale.

b : les valeurs de PLT données par le Sysmex XN-1000V[®] correspondent aux PLT-O et celles données par le Procyte Dx[®] correspondent aux PLT-I

* : fausse thrombopénie

CN : chien, RBC : numération totale en hématies, HCT : hématocrite, HGB : hémoglobine, VGM : volume globulaire moyen, TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, IDR : indice de distribution des globules rouges, RET : réticulocytes, T_c : taux corrigé de réticulocytes, WBC : numération totale leucocytaire, NEUT : neutrophiles, LYMPH : lymphocytes, MONO : monocytes, EOSI : éosinophiles, BASO : basophiles, PLT : plaquettes

Annexe 5 : Données issues de l'analyse morphologique du frottis sanguin des chats de l'étude.

CT	Anomalies morphologiques de la lignée rouge	ERY (/100 leucocytes)	Test agglutination	Test de Coombs	Test FeLV/FIV	Band cells (%)	Anomalies morphologiques de la lignée leucocytaire	Signes de toxicité des neutrophiles	Type de cellule concerné par les GGD	Jour de détection des GGD	Anomalies morphologiques de la lignée plaquettaire	Amas plaquettaire
1	Anisocytose +, polychromatophilie +/- Rouleaux +, anisocytose ++, acanthocytes et échinocanthocytes ++++, pré-kératocytes +/-, kératocytes +, corps de Heinz +	0	-	-	Négatif	10	Leucocytose modérée neutrophilique et monocyttaire, left shift marqué. Précurseurs (promyélocytes) ++, lymphocytes réactionnels +/-	Oui (++++)	N	0	Thrombopénie vraie, anisocytose ++, macroplaquettes ++, plaquettes hypogranuleuses +	Oui (+/-)
2	Anisocytose +, acanthocytes +	0	-	-	Négatif	2	Lymphopénie, right shift. N hypersegmentés ++, rares macrophages phagocytaires de corps lingibles de couleur basophile moyens	Oui (+)	N	0	Anisocytose +/-	Non
3	Anisocytose +, acanthocytes +	0	-	-	-	35	Neutrophilie, left shift.	Oui (++++)	N	0	Thrombopénie (61500/ μ L), anisocytose +	Non
4	Anisocytose +, acanthocytes +	0	-	-	-	0	Monocytose, lymphopénie. Monocytes activés +/-	Oui (+)	N	0	Thrombopénie marquée, en partie artéfactuelle. Anisocytose +	Oui (+)
5	-	0	-	-	-	4	Leucocytose neutrophilique, left shift. Lymphocytes réactionnels +.	Oui (+++)	N	0	Légère thrombopénie. Anisocytose +	Non
6	Rouleaux ++, anisocytose +, acanthocytes +	0	-	-	-	1	Neutrophilie modérée. Lymphopénie. N hypersegmentés +/-, B +/-	Oui (++++)	N	0	Probable sous-estimation plaquettaire	Oui (++++)
7	Légère polychromatophilie Anémie marquée normocytaire normochrome régénérative. érythroblastes acidophiles, polychromatophilie +/-	3	-	-	-	19	Leucocytose neutrophilique, left shift marqué, lymphopénie. Monocytes activés +	Oui (++)	N	0	Anisocytose +	Non
8	Anisocytose +, rares érythroblastes acidophiles, polychromatophilie +/-, Anémie légère à modérée hypochrome macrocytaire régénérative. Rouleaux +/-, agglutinats +, anisocytose +, polychromatophilie +/-, poikilocytose +, hématis à bords flous +/-, triple population de globules rouges	0	Douteux	-	-	2	Léger left shift, lymphopénie. Monocytes activés ++, lymphocytes activés +/-, une cellule de grande taille blastique avec grains d'origine lymphoïde	Oui (+++)	N	0	Anisocytose +, macroplaquettes ++	Oui (++++)
9	Anisocytose +, acanthocytes +, polychromatophilie +/-, poikilocytose +, hématis à bords flous +/-, triple population de globules rouges	1	Positif (post xéno-transfusion, possible faux positif)	3+	Négatif	9	Leucocytose neutrophilique et monocytose. Monocytes réactionnels ++, N hypersegmentés +, lymphocytes réactionnels +	Oui (++++)	N et M	2	Thrombopénie sévère (1500/ μ L), morphologie non évaluable	-

CT	Anomalies morphologiques de la lignée rouge	ERY (/100 leucocytes)	Test agglutination	Test de Coombs	Test FeLV/FIV	Band cells (%)	Anomalies morphologiques de la lignée leucocytaire	Signes de toxicité des neutrophiles	Type de cellule concerné par les GGD	Jour de détection des GGD	Anomalies morphologiques de la lignée plaquettaire	Amas plaquettaire
10	Anémie modérée normocytaire normochrome régénérative. Poikilocytose +++, corps de Heinz +/-, anisocytose ++, polychromatophilie ++. Quantité limitée	-	-	-	-	20	Left shift marqué, leucocytose légère neutrophilique. Monocytes réactionnels +++, bactéries phagocytées.	Oui (++++)	M	0	Anisocytose ++, macroplaquettes ++, plaquettes géantes rares	Oui (+)
11	acanthocytes +/-, corps de Heinz +/-	0	-	-	-	7	Left shift marqué.	Oui (++)	N	0	-	Non
12	Anémie modérée normocytaire normochrome hyporégénérative, acanthocytes +	10	Négatif	-	-	-	Probable neutropénie, left shift. Noyaux nus parfois blastiques ++ (ombres de Gumprecht), cellules blastiques très peu reconnaissables caractérisés par une taille grande, un RNP plutôt élevé, un cytoplasme basophile moyen, un noyau grossièrement lobé à rond dévoilant un nucléole bien visible, macrophages circulants.	Oui (+++)	N et M	0	Thrombopénie sévère (20000/uL), anisocytose ++, macroplaquettes ++	Non
13	Anémie modérée microcytaire normochrome non régénérative. Rouleaux ++, anisocytose ++, échinocanthocytes +, ovalocanthocytes +, ovalocytes +, corps de Heinz +	1	Négatif	-	Négatif	2	Leucocytose marquée neutrophilique et monocyttaire, right shift. Monocytes réactionnels ++, N hypersegmentés ++, cellules lymphoïdes réactionnelles +	Oui (++)	N	0	Anisocytose +	Oui (+)
14	Acanthocytes +, kératocytes ++, corps de Heinz ++, anisocytose + Limite anémie. Anisocytose +, corps de Heinz +, corps écentriques +/-, échino-acanthocytes ++, hématies fantômes ++, schizocytes +/-, corps de Howell-Jolly +, polychromatophilie +, CCMH >40 g/dL	0	-	-	-	10	Left shift, lymphopénie. B +/-, monocytes activés ++, noyaux bitritioïdes +/-	Oui (++++)	N	0	Anisocytose +/-	Oui (+/-)
15		0	Négatif	-	-	3	Left shift, lymphopénie. N hypersegmentés ++, monocytes activés +/-	Oui (++)	N	0	Sous-estimation numération plaquettaire, thrombocytose suspectée. Anisocytose ++, macroplaquettes ++, plaquettes géantes ++	Oui (+++++)

CT	Anomalies morphologiques de la lignée rouge	ERY (/100 leucocytes)	Test agglutination	Test de Coombs	Test FeLV/FIV	Band cells (%)	Anomalies morphologiques de la lignée leucocytaire	Signes de toxicité des neutrophiles	Type de cellule concerné par les GGD	Jour de détection des GGD	Anomalies morphologiques de la lignée plaquettaire	Amas plaquettaire
15	Limite anémie. Anisocytose +++, corps de Heinz +++, eccentrocytes +/-, échino-acanthocytes ++, hématies fantômes ++, schizocytes +/-, corps de Howell-Jolly +, polychromatophilie +, CCMH >40 g/dL	0	Négatif	-	-	3	Left shift, lymphopénie. N hypersegmentés ++, monocytes activés +/-	Oui (++)	N	0	Sous-estimation numération plaquettaire, thrombocytopénie suspectée. Anisocytose ++, macroplaquettes ++, plaquettes géantes ++	Oui (+++++)
16	Limite anémie. Anisocytose +, érythroblastes +, corps de Heinz +++, hématies fantômes +	0	-	-	-	4	Leucocytose neutrophilique et monocyttaire, left shift, légère basophilie. B +, cellules lymphoïdes basophiles à noyau rond, rares cellules blastiques lymphoïdes, quelques précurseurs de la lignée myéloïde	Oui (++)	N	0	Anisocytose ++, macroplaquettes +	Oui (+++)
17	Anémie sévère normocytaire normochrome hyporégénérative. Répartition inévaluable, anisocytose ++, polychromatophilie +, érythroblastes +, corps de Heinz +/-, hématies fantômes +/-	0	Négatif	-	-	2	Leucocytose modérée neutrophilique et monocyttaire, left shift. Rares promyélocytes, corps tingibles indéterminés dans les N, monocytes activés +++, nombreux macrophages circulants, lymphocytes activés +/-, qq blastes de grande taille myélomonocytaires	Oui (+++++)	M	0	Thrombopénie marquée (10500/UL) probable, anisocytose +++++, plaquettes géantes ++, macroplaquettes +++	Oui (+/-)

CT : chat, ERY : érythroblastes, FIV : virus de l'immunodéficience féline, FeLV : virus leucémogène félin, GGD : green granules of death, N : neutrophile, M : monocyte, B : basophile, CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, RNP : rapport nucléo-plasmique

Annexe 6 : Données issues de l'analyse morphologique du frottis sanguin des chiens de l'étude.

CN	Anomalies morphologiques de la lignée rouge	ERY (/100 leucocytes)	Test agglutination	Band cells (%)	Anomalies morphologiques de la lignée leucocytaire	Signes de toxicité des neutrophiles	Type de cellule concerné par les GGD	Jour de détection des GGD	Anomalies morphologiques de la lignée plaquettaire	Amas plaquettaire
1	Anémie normocytaire hypochrome non régénérative. Anisocytose +, polychromatophilie +/-, érythroblastes +	1	Négatif	30	Left shift, lymphopénie. Monocytes activés ++, rares mastocytes	Oui (++)	N et M	0	Thrombopénie en partie artéfactuelle (90000/µL), cryofibrine suspectée, anisocytose +++, macroplaquettes ++	Non
2	Anémie limite normocytaire normochrome hyperrégénérative. Polychromatophilie +, anisocytose +/-, érythroblastes +/-	6	Négatif	3	Lymphopénie et right shift. N hypersegmentés +/-	Oui (++)	N	3	Thrombopénie probablement sous-estimée (6000/µL), macroplaquettes +	Non
3	Rouleaux +/+, hématies à bords flous +, polychromatophilie +, anisocytose +/-	2	-	26	Légère neutrophilie, lymphopénie, left shift. Monocytes activés +/-	Oui (++)	N	0	Macroplaquettes +, anisocytose +	Non
4	Kératocytes +/-, acanthocytes +/-	0	-	9	Left shift marqué, lymphopénie	Oui (+)	M	0	Thrombopénie limite	Non
5	Hématies à bords flous +/-, acanthocytes +/-, anisocytose +, rares schizocytes	0	-	0	Lymphopénie, monocytes activés +/++	Non	N	0	Anisocytose +, macroplaquettes +/++	Oui (rares)
6	Légère anémie, limite macrocytaire, normochrome non régénérative. Corps de Howell-Jolly +, acanthocytes +/-, rares cristaux d'hémoglobine, rares sphérocytes	0	Négatif	3	Leucocytose marquée neutrophilique et monocyttaire, left shift. Mastocytes ++	Non	N	0	Anisocytose +, macroplaquettes +	Non
7	Anémie modérée normocytaire normochrome régénérative. Anisocytose +, polychromatophilie ++, hématies à bords flous ++, érythroblastes acidophiles +, corps de Howell Joly +	1	Négatif	0	Leucocytose neutrophilique modérée, right shift, éosinophilie, basophilie. B ++, N hypersegmentés +, E activés +, un mastocyte visualisé en début de frottis	Non	M	0	Anisocytose +, macroplaquettes +	Oui (+)
8	Hématies à bords flous +	0	-	0	Leucopénie par lymphopénie. Lymphocytes activés +/-	Non	N	0	Anisocytose +, macroplaquettes +/-	Non
9	Anémie modérée normocytaire normochrome fortement régénérative. Anisocytose ++, polychromatophilie ++, acanthocytes/ovalocanthocytes ++, rares schizocytes, pinocytes ou sphérocytes +.	5	Négatif	1	Leucocytose neutrophilique. Monocytes activés +/-	Oui (+/-)	N	0	Thrombopénie probablement artéfactuelle (123000/µL), anisocytose ++, macroplaquettes ++	Oui (++)
10	Acanthocytes et échinoacanthocytes +/-, schizocytes +/-	1	-	11	Neutrophilie, left shift. Rares plasmocytes, cellules monocytaires blastiques	Oui (++)	M	2	Limite thrombopénie. Anisocytose ++, macroplaquettes ++	Oui (+/- à +)
11	Polyglobulie modérée à assez marquée. Légère érythroblastose sans anémie. Anisocytose +/-, érythroblastes acidophiles +, polychromatophilie +/-	1	-	2	Léger left shift. N hypersegmentés +++ et anormalement lobés ++, mastocytes +/-, monocytes activés ++, rares macrophagiques	Oui	N	0	Thrombopénie sévère (10000/µL), très rares petits amas fibrinoplaquettaires, anisocytose +, rares plaquettes géantes	Non

CN	Anomalies morphologiques de la lignée rouge	ERY (/100 leucocytes)	Test agglutination	Band cells (%)	Anomalies morphologiques de la lignée leucocytaire	Signes de toxicité des neutrophiles	Type de cellule concerné par les GGD	Jour de détection des GGD	Anomalies morphologiques de la lignée plaquettaire	Amas plaquettaire
12	Anémie limite, macrocytaire hypochrome régénérative. Anisocytose ++, polychromatophilie +++, érythroblastes +/+ +, hématies à bords flous ++, corps d'Howell Jolly ++, figures de mitoses rares	13	Négatif	9	Leucocytose marquée neutrophilique et monocyttaire, left shift.	Oui (+)	M	0	Anisocytose ++, macroplaquettes ++, rares plaquettes géantes	Non
13	Anisocytose +, polychromatophilie +/-, érythroblastose +/-+, hématies à bords flous ++, cellules fantômes +	26	-	10	Panleucopénie marquée en particulier neutrophilique, dégénérative left shift marqué. Monocytes activés +++ voire d'allure macrophagique, précurseurs myélo-monocytaires ++, dysplasie myélo-monocyttaire +/-+	Oui (++++)	M	0	Anisocytose ++, macroplaquettes ++, plaquettes géantes +/-+	Non
14	Limite anémie. Anisocytose +, hématies à bords flous +/-+ et rares lysées, nombreuses petites gouttelettes incolores se superposant aux hématies, polychromatophilie +/-+, corps de Heinz +, corps de Howell-Jolly + (parfois doubles), érythroblastes acidophiles +, quelques signes de dysérythropoïèse	10	-	19	Panleucopénie avec neutropénie sévère et lymphopénie modérée, left shift. Monocytes activés +++/++++ (chromatine fine +/- nucléolée, microvacuolisation ++), anomalie de lobation des N +/-+, précurseurs ++ (métamyélocytes, probables myélocytes), qqs blastes d'origine incertaine (myélo-monocyttaire ou lymphoïde). Microvacuolisation très marquée des neutrophiles et monocytes	Oui (++++)	M	1	Anisocytose ++, macroplaquettes +	Oui (+)

CN : chien, ERY : érythroblastes, GGD : green granules of death, N : neutrophile, B : basophile, M : monocyte

Annexe 7 : Tableau de variables biochimiques mesurées pour 17 chats (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Vitros XT3400® sauf mention contraire, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Catalyst One®).

ANALYTES																			
CT	ALAT (U/L)	ASAT (U/L)	PAL (U/L)	GGT (U/L)	CK (U/L)	BIL (µmol/L)	PT (g/L)	ALB (g/L)	A/G	CREA (µmol/L)	UREE (mmol/L)	GLU (mmol/L)	NH3 (µmol/L)	P (mmol/L)	Ca (mmol/L)	Mg (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	TRIG (mmol/L)	SAA (mg/L)
<u>1</u>	251	-	14	0.0	-	8.21	77	27	0.50	283.76	95.14	5.44	-	3.42	2.15	-	3.44	-	-
<u>2</u>	55	85	108	<10.0	513	28.80	94	46	0.96	1105.00	111.40	8.80	-	8.80	2.50	3.70	10.60	9.20	-
<u>3</u>	>4000	-	29	1.0	-	83.96	64	25	0.64	118.46	22.24	2.94	35	2.09	1.87	-	2.20	-	-
<u>4</u>	6271	-	99	7.0	-	211.53	57	23	0.66	232.49	34.34	7.55	-	2.49	1.95	-	3.47	-	-
<u>5</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>6</u>	1383	569	120	<10.0	275	19.90	78	34	0.77	84.00	8.60	12.40	-	0.50	2.20	0.90	5.70	1.10	-
<u>7</u>	1627	1114	32	<5.0	>32000	6.20	59	30	1.01	414.90	14.80	6.84	-	2.39	2.23	1.12	2.32	1.36	-
<u>8</u>	146	175	79	<10.0	259	6.90	46	21	0.84	122.00	7.80	17.50	-	2.30	2.00	1.20	3.90	1.40	-
<u>9</u>	48*	-	12*	0.0*	-	52.50*	60*	23*	0.61*	53.04*	14.21*	6.66*	-	1.38*	2.00*	-	3.03*	-	-
<u>10</u>	53**	73	307**	34.1**	275**	53.60	62	27	0.77	62.00	15.50**	2.90**	-	1.80**	-	0.70	5.90**	1.50**	-
<u>11</u>	287	326	380	13.1	282	66.90	69	31	0.82	101.00	6.10	9.40	16***	1.10	2.40	1.20	3.30	2.20	-
<u>12</u>	577	-	33	0.0	-	47.37	51	21	0.70	188.29	32.49	17.71	-	1.39	2.07	-	3.03	-	-
<u>13</u>	24	50	26	27.7	102	3.40	90	27	0.43	74.00	5.80	11.60	23	1.80	2.10	0.80	2.60	0.40	95.2
<u>14</u>	387	-	<10	0.0	-	64.98	57	23	0.68	indosable	>97.64	19.54	-	>5.20	1.65	-	4.14	-	-
<u>15</u>	202	-	85	7.0	-	113.03	73	35	0.90	-	88.21	>38.08	-	2.23	2.35	1.52	10.09	-	-
<u>16</u>	45	-	<10	0.0	-	8.21	69	23	0.50	67.18	22.81	6.94	-	0.82	2.00	-	3.80	-	-
<u>17</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Intervalles de référence (se référer aux unités données dans le tableau) :

- Vitros XT3400® : ALAT : [20 – 107], ASAT : [0.6 – 44], PAL : [23 – 44], GGT : [0.0 – 5.0], CK : [49 – 688], BIL : [1.70 – 8.40], PT : [55 – 71], ALB : [27 – 39], CREA : [80.00 – 229.00], UREE : [5.40 – 10.40], GLU : [4.20 – 11.00], NH3 : [0 – 95], P : [0.80 – 3.00], Ca : [2.30 – 2.90], Mg : [0.80 – 1.10], CHOL : [2.00 – 7.90], TRIG : [0.20 – 1.80]
- Catalyst One® : ALAT : [12 – 130], PAL : [14 – 111], GGT : [0.0 – 4.0], BIL : [0.00 – 15.39], PT : [57 – 89], ALB : [23 – 39], CREA : [70.72 – 212.16], UREE : [12.00 – 26.99], GLU : [3.94 – 8.83], NH3 : [0 – 95], P : [1.00 – 2.42], Ca : [1.95 – 2.82], Mg : [0.62 – 1.23], CHOL : [1.68 – 5.82]
- Cubevet Eurolyser® : SAA : [0.0 – 4.0]

En **rouge**, valeur augmentée par rapport à la borne supérieure de l'intervalle de référence. En **bleu**, valeur diminuée par rapport à la borne inférieure de l'intervalle de référence. La SAA est mesurée avec le Cubevet Eurolyser® uniquement.

* : valeur mesurée 36 heures avant l'observation des GGD

** : analyse faite sur plasma congelé (4 mois et 17 jours après observation des inclusions bleu-vert type « green granules of death »)

*** : valeur mesurée par le Catalyst One®

CT : chat, ALAT : Alanine aminotransférase, ASAT : Aspartate aminotransférase, PAL : Phosphatases alcalines, GGT : Gamma-glutamyltranspeptidase, CK : Créatine kinase, BIL : Bilirubine totale, PT : Protéines totales, ALB : Albumine, A/G : Rapport albumine/globulines, CREA : Créatinine, UREE : Urée, GLU : Glucose, NH3 : ammoniac, P : Phosphates, Ca : Calcium, Mg : Magnésium, CHOL : Cholestérol, TRIG : Triglycérides, SAA : protéine sérique amyloïde A

Annexe 8 : Tableau de variables biochimiques mesurées pour 14 chiens (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Vitros XT3400® sauf mention contraire, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées par le Catalyst One®).

ANALYTES																			
CN	ALAT (U/L)	ASAT (U/L)	PAL (U/L)	GGT (U/L)	CK (U/L)	BIL (µmol/L)	PT (g/L)	ALB (g/L)	A/G	CREA (µmol/L)	UREE (mmol/L)	GLU (mmol/L)	NH3 (µmol/L)	P (mmol/L)	Ca (mmol/L)	Mg (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	TRIG (mmol/L)	CRP (mg/L)
1	>1000	-	106	0.0	-	3.93	59	25	0.74	213.04	23.45	5.33	-	2.44	2.3	-	3.13	-	-
2	8036	2110	3012	30.6	2099	13.20	44	20	0.83	70.00	5.70	5.80	11	1.20	2.1	0.8	4.10	0.9	68.1
3	Indosable	13557	2080	199.1	2396	15.00	65	34	1.10	85.00	13.90	1.80	-	4.10	2.6	1.1	15.90	2.0	-
4	350	349	83	<10.0	1886	4.50	64	33	1.06	173.00	18.70	7.60	-	1.80	2.7	0.6	7.70	0.7	-
5	150*	42*	195*	10.3*	76*	4.60*	62*	37*	1.48*	109.00*	13.00*	6.70*	-	1.20*	-	0.8*	6.50*	0.8*	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	90	44	225	15.3	120	4.40	64	36	1.29	122.00	22.70	5.50	-	1.50	2.6	0.7	5.20	1.2	-
8	97	41*	461*	11.3*	223*	8.50*	68*	39*	1.34*	41.00*	9.80*	5.00*	-	1.50*	-	1*	8.40*	4.7*	-
9	-	-	-	-	-	12.82	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-
10	437**	84**	2366**	17.8**	144**	75.10	68**	28**	0.70**	126.00	3.90**	4.90**	<9	0.90**	2.3**	0.7**	3.70**	0.4**	99.0
11	995	1360	544	18.2	27446	33.20	73	37	1.03	887.00	64.40	7.30	-	7.70	-	1.3	7.20	3.2	-
12	156	-	476	-	-	9.90	60	31	1.07	68.00	8.10	5.10	-	-	-	-	-	-	-
13	2827	220	5410	536.6	104	23.40	66	30	0.83	57.00	3.20	6.30	0***	1.20	2.4	0.7	20.30	1.5	-
14	124	24	204	<10.0	54	9.30	67	37	1.23	299.00	7.90	5.90	8***	1.10	-	0.6	7.40	2.1	-

Intervalles de référence (se référer aux unités données dans le tableau) :

- Vitros XT3400® : ALAT : [3 – 50], ASAT : [1 – 37], PAL : [20 – 155], GGT : [5.0 – 25.0], CK : [25 – 467], BIL : [1.70 – 12.00], PT : [48 – 66], ALB : [23 – 39], CREA : [44.00 – 133.00], UREE : [1.60 – 10.90], GLU : [3.70 – 8.20], NH3 : [0 – 98], P : [3.20 – 5.00], Ca : [2.4 – 3], Mg : [0.7 – 1], CHOL : [3.30 – 9.30], TRIG : [0.2 – 1.3]
- Catalyst One® : ALAT : [10 – 125], PAL : [23 – 212], GGT : [0.0 – 11.0], BIL : [0.00 – 15.39], PT : [52 – 82], ALB : [23 – 40], CREA : [44.20 – 159.12], UREE : [5.25 – 20.24], GLU : [4.11 – 7.94], NH3 : [0 – 98], P : [0.81 – 2.20], Ca : [1.97 – 2.99], CHOL : [2.84 – 8.28]
- Cubevet Eurolyser® : CRP : [0.5 – 10.0]

En **rouge**, valeur augmentée par rapport à la borne supérieure de l'intervalle de référence. En **bleu**, valeur diminuée par rapport à la borne inférieure de l'intervalle de référence. La CRP est mesurée avec le Cubevet Eurolyser® uniquement.

* : analyse faite sur plasma congelé (6 mois après observation des inclusions bleu-vert type « green granules of death » pour le chien 5 et 4 mois et 10 jours pour le chien 8)

** : valeur mesurée 38 heures avant l'observation des inclusions bleu-vert type « green granules of death »

*** : valeur mesurée par le Catalyst One®

ALAT : Alanine aminotransférase, ASAT : Aspartate aminotransférase, PAL : Phosphatases alcalines, GGT : Gamma-glutamyltranspeptidase, CK : Créatine kinase, BIL : Bilirubine totale, PT : Protéines totales, ALB : Albumine, A/G : Rapport albumine/globulines, CREA : Créatinine, UREE : Urée, GLU : Glucose, NH3 : ammoniac, P : Phosphates, Ca : Calcium, Mg : Magnésium, CHOL : Cholestérol, TRIG : Triglycérides, CRP : Protéine C-réactive

Annexe 9 : Tableau récapitulatif des bilans électrolytiques, de la lactatémie et de la gazométrie sanguine pour les 17 chats de l'étude (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées avec le Vitros XT3400® sauf mention contraire, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées avec le Stat Profile Prime®VET sauf mention contraire).

ANALYTES										
CT	Na ⁺ (mmol/L)	K ⁺ (mmol/L)	Cl ⁻ (mmol/L)	Lactates (mmol/L)	pH	BE (mmol/L)	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	pCO ₂ (mmHg)	pO ₂ (mmHg)	Ca ²⁺ (mmol/L)
<u>1</u>	-	-	-	3.2	-	-	-	-	-	-
<u>2^a</u>	153.0	4.20	114.0	1.7	7.050	-21.5	9.0	33.0	66.0	0.96
<u>3</u>	-	-	-	16.0	-	-	-	-	-	-
<u>4</u>	-	-	-	4.1	-	-	-	-	-	-
<u>5</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>6</u>	141.0	3.30	113.0	2.6	-	-	17.0	-	-	-
<u>7</u>	151.0	3.80	117.0	-	-	-	18.0	-	-	-
<u>8</u>	142.0	2.59	116.9	20.0	7.220	-11.3	14.9	36.0	39.8	1.17
<u>9</u>	145.3	3.09	119.3	3.3	7.311	-4.5	20.5	40.3	30.3	1.12
<u>10</u>	143.0	2.90	118.0	-	-	-	11.0	-	-	-
<u>11</u>	149.1	4.19	120.6	-	-	-	21.0	-	-	1.18
<u>12</u>	142.4	3.40	115.8	13.5	7.098	-17.6	9.6	30.6	29.5	1.29
<u>13</u>	154.0	3.50	128.0	-	-	-	16.0	-	-	1.14
<u>14^a</u>	146.0	5.70	116.0	1.3	7.040	-19.3	11.2	42.0	45.0	0.75
<u>15</u>	-	-	-	2.0	-	-	-	-	-	-
<u>16</u>	138.5	5.05	117.2	1.5	7.325	-7.6	16.8	32.0	39.7	1.18
<u>17</u>	152.6	3.88	121.3	13.3	7.243	-11.1	14.6	33.5	51.5	1.07

Intervalles de référence (se référer aux unités données dans le tableau) :

- Vitros XT3400® : Na⁺ : [148.0 – 157.0], K⁺ : [3.50 – 5.10], Cl⁻ : [115.0 – 128.0], HCO₃⁻ : [16.0 – 25.0], Ca²⁺ : [1.10 – 1.40]
- Stat Profile Prime®VET : Na⁺ : [146.0 – 157.0], K⁺ : [3.50 – 4.80], Cl⁻ : [116.0 – 126.0], pH : [7.250 – 7.410], HCO₃⁻ : [16.0 – 25.0], pCO₂ : [28.0 – 50.0], pO₂ : [30.0 – 50.0], Ca²⁺ : [1.10 – 1.33]

- VetStat® : pH : [7.240 – 7.400], HCO₃⁻ : [18.0 – 23.2], pCO₂ : [32.7 – 44.7], iCa : [1.13 – 1.38]

Intervalle de référence retenu pour les BE : [-4-+4]. L'intervalle de référence pour la pO₂ mesurée avec le VetStat® n'est pas connu. Seuil retenu pour l'hyperlactatémie : >2.0 mmol/L.

En **rouge**, valeur augmentée par rapport à la borne supérieure de l'intervalle de référence. En **bleu**, valeur diminuée par rapport à la borne inférieure de l'intervalle de référence.

^a : gazométrie (pH, BE, HCO₃⁻, pCO₂, pO₂) faite avec le VetStat®

* : valeur mesurée par le Vitros XT3400®

CT : chat, BE : base excess, HCO₃⁻ : bicarbonates, pCO₂ : pression partielle en CO₂, pO₂ : pression partielle en O₂

Annexe 10 : Tableau récapitulatif des bilans électrolytiques, de la lactatémie et de la gazométrie sanguine pour les 14 chiens de l'étude (identifiant non souligné : toutes les valeurs ont été mesurées avec le Vitros XT3400® sauf mention contraire, identifiant souligné : toutes les valeurs ont été mesurées avec le Stat Profile Prime®VET).

ANALYTES										
CN	Na ⁺ (mmol/L)	K ⁺ (mmol/L)	Cl ⁻ (mmol/L)	Lactates (mmol/L)	pH	BE (mmol/L)	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	pCO ₂ (mmHg)	pO ₂ (mmHg)	Ca ²⁺ (mmol/L)
1	-	-	-	13.2	-	-	-	-	-	-
2	136.0	4.10	109.0	-	-	-	23.0	-	-	-
3	141.0	3.00	105.0	15.0	-	-	12.0	-	-	-
4	139.9	3.64	108.7	-	-	-	18.0	-	-	1.19
5	142.8*	4.20*	113.4*	-	-	-	25.6*	-	-	1.19*
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7^a	140.9	4.61	109.1	3.4	7.480	6.0	29.2	38.7	39.1	1.20
8	142.0*	3.90*	111.0*	-	-	-	12.0*	-	-	-
9	146.3	4.04	116.2	2.4	7.395	-2.3	21.4	34.7	147.2	1.31
10	136.7	3.56	111.6	3.3	-	-	17.0	-	-	1.19
11^a	146.7	5.14	101.7	1.3	7.515	-0.7	18.9	23.2	105.5	0.81
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	144.5	4.64	114.2	2.0	-	-	22.0	-	-	1.33
14	140.2	3.83	106.4	3.2	7.276	-2.5	24.2	51.5	30.5	1.18

Intervalle de référence (se référer aux unités données dans le tableau) :

- Vitros XT3400® : Na⁺ : [138.0 – 148.0], K⁺ : [3.20 – 5.00], Cl⁻ : [110.0 – 118.0], HCO₃⁻ : [16.0 – 25.0], Ca²⁺ : [1.20 – 1.50]
- Stat Profile Prime®VET : Na⁺ : [140.0 – 150.0], K⁺ : [3.90 – 4.90], Cl⁻ : [109.0 – 120.0], pH : [7.340 – 7.460], HCO₃⁻ : [20.0 – 29.0], pCO₂ : [32.0 – 49.0], pO₂ : [30.0 – 50.0], Ca²⁺ : [1.16 – 1.40]

Intervalle de référence retenu pour les BE : [-4;+4]. Seuil retenu pour l'hyperlactatémie : >2.5 mmol/L.

En **rouge**, valeur augmentée par rapport à la borne supérieure de l'intervalle de référence. En **bleu**, valeur diminuée par rapport à la borne inférieure de l'intervalle de référence.

^a : gazométrie (pH, BE, HCO₃⁻, pCO₂, pO₂, Ca²⁺) faite avec le Stat Profile Prime®VET

* : analyse faite sur plasma congelé (6 mois après observation des inclusions bleu-vert type « green granules of death » pour le chien 5 et 4 mois et 10 jours pour le chien 8)

CN : chien, BE : base excess, HCO₃⁻ : bicarbonates, pCO₂ : pression partielle en CO₂, pO₂ : pression partielle en O₂

Annexe 11 : Tableau de données des profils de coagulation des chats de l'étude (réalisés par le STA Compact Max 3®).

ANALYTES					
CT	TQ (s)	TCA (s)	Fibrinogène (g/L)	PDF (mg/L)	ATIII (%)
9	15.4	20.7	2.70	-	148
13	13.8	14.3	4.34	-	-

Intervalles de référence (se référer aux unités données dans le tableau) :

- STA Compact Max 3® : TQ : [10.7 – 14.0], TCA : [12.6 – 19.9], Fibrinogène : [1.00 – 2.10], ATIII : [97 – 156]

En rouge, valeur augmentée par rapport à la borne supérieure de l'intervalle de référence.

CT : chat, TQ : temps de Quick, TCA : temps de céphaline activé, PDF : produits de dégradation de la fibrine, ATIII : antithrombine III

Annexe 12 : Tableau de données des profils de coagulation des chiens de l'étude (identifiant non souligné : profil de coagulation réalisé par le STA Compact Max 3®, identifiant souligné : profil de coagulation réalisé par le Coag Dx®).

ANALYTES					
CN	TQ (s)	TCA (s)	Fibrinogène (g/L)	PDF (mg/L)	ATIII (%)
1	37.1	93.9	0.69	>20	75
3	>100.0	>300.0	-	-	-
7	15.6	17.5	0.44	5< <20	104
9	10.8	15.2	1.73	-	-
10	9.4	17.0	3.27	-	-
11	12.3	14.8	4.56	5< <20	86
14	9.9	15.9	4.10	5< <20	57

Intervalles de référence (se référer aux unités données dans le tableau) :

- STA Compact Max 3® : TQ : [7.3 – 9.9], TCA : [11.4 – 14.1] (sauf CN 1 : [12.9 – 16.9]), Fibrinogène : [1.30 – 4.70], PDF <20, ATIII : [102 – 191]

- Coag Dx® : TQ : [11.0 – 17.0], TCA : [72.0 – 102.0]

En rouge, valeur augmentée par rapport à la borne supérieure de l'intervalle de référence. En bleu, valeur diminuée par rapport à la borne inférieure de l'intervalle de référence.

CN : chien, TQ : temps de Quick, TCA : temps de céphaline activé, PDF : produits de dégradation de la fibrine, ATIII : antithrombine III

NOM : SPEZIALE

PRÉNOM : Gabriel

TITRE : Description préliminaire des données clinico-pathologiques associées à l'observation d'inclusions bleu-vert de type « *green granules of death* » sur le frottis sanguin de chien et de chat

RÉSUMÉ : L'objectif de cette étude est de rapporter les données clinico-pathologiques observées chez des chiens et des chats pour lesquels des inclusions bleu-vert, connues sous le nom de « *green granules of death* », ont été détectées sur le frottis sanguin. Ces inclusions sont morphologiquement similaires à celles décrites en médecine humaine, et plus récemment chez le chien. Pour tous les cas inclus, l'autofluorescence permettant de suspecter la lipofuscine comme composant de ces inclusions a pu être confirmée. Une description des données clinico-pathologiques (principalement biochimiques et hématologiques) la plus exhaustive possible est proposée, ainsi que des données relatives au diagnostic et à la survie des animaux. De la même manière qu'en médecine humaine, une association entre la détection de ces inclusions et des lésions hépatiques est envisagée, et un taux de mortalité élevé est observé chez les chiens et les chats inclus dans cette étude.

MOTS-CLÉS : hématologie, *green granules of death*, chien, chat, lipofuscine

TITLE : Preliminary description of clinico-pathological data associated with the detection of blue-green inclusions also known as 'green granules of death' in the blood smear of dogs and cats.

SUMMARY : The aim of this study is to report the clinico-pathological data observed in dogs and cats in which blue-green inclusions, known as 'green granules of death', similar to those observed in human medicine, were detected on the blood smear of 13 dogs and 18 cats. These inclusions are morphologically similar to those described in human medicine, and more recently in dogs. In all cases, autofluorescence was confirmed, allowing lipofuscin to be suspected as a component of these inclusions. A description of the clinico-pathological data (mainly biochemical and haematological) associated with the detection of these inclusions is given as precisely as possible, as well as data relating to the diagnosis and survival of the animals. As in human medicine, an association between the presence of these inclusions and liver injuries is suspected, and a high mortality rate is along dogs and cats in this study.

KEY WORDS : hematology, green granules of death, dog, cat, lipofuscin