

TABLE DES MATIERES

Liste des acronymes et abréviations	5
Liste des tableaux	6
Liste des figures	7
Liste des photographies.....	8
INTRODUCTION.....	9
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA TRANSFUSION CHEZ LE FURET.....	11
1. Indications.....	11
a) Eléments cliniques et hématologiques indiquant une anémie.....	11
i. Eléments cliniques.....	11
ii. Prélèvement sanguin.....	11
iii. Examens complémentaires.....	11
iiii. Normes hématologiques.....	12
b) Principales affections nécessitant une transfusion sanguine.....	13
i. Etiologie des anémies régénératives.....	14
ii. Etiologie des anémies hypo ou arégénératives.....	15
2. Prélèvement.....	16
a) Sélection des donneurs.....	16
b) Compatibilité donneur-receveur et groupes sanguins chez le furet.....	17
c) Contention du donneur	18
d) Volume à prélever et matériel nécessaire.....	19
e) Préparation et choix du site de prélèvement	19
f) Soins apportés au donneur après le prélèvement.....	21
3. Administration du sang au receveur.....	21
a) Préparation du receveur et du sang à transfuser	21
b) Sites d'injections.....	22
c) Volume à transfuser et rythme d'administration.....	22
d) Réactions transfusionnelles.....	22

<u>DEUXIEME PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA CONSERVATION</u>	
<u>DES HEMATIES LORS DU STOCKAGE, EN VUE D'UNE TRANSFUSION.....</u>	<u>23</u>
1. Métabolisme des hématies en conditions physiologiques.....	23
2. Anticoagulants, conservateurs et contenants disponibles.....	24
a) Les anticoagulants et les conservateurs	24
b) Les contenants	25
3. Modifications des hématies pendant leur stockage : « The storage lesion ».....	25
a) Modifications métaboliques.....	26
b) Modifications membranaires	27
c) Modifications enzymatiques.....	27
d) Libération d'hémoglobine et hémolyse.....	27
e) Contamination bactérienne.....	28
f) Contamination avec le di-ethylhexyl phtalate (DEHP) ou d'autres plastiques.....	28
4. Etudes in vitro et in vivo de la viabilité des produits sanguins	28
a) Etude in vivo de la viabilité des hématies	28
b) Etude biochimique de la viabilité des hématies.....	28
c) Etude morphologique de la sénescence des hématies.....	29
<u>TROISIEME PARTIE : MISE EN PLACE DE PROTOCOLES DE PRELEVEMENT ET</u>	
<u>DE STOCKAGE EN VUE DE CREER UNE BANQUE DE SANG CHEZ LE FURET.....</u>	<u>31</u>
1. Mise en place des protocoles de prélèvements et de stockage : Matériel et méthode. . .	31
a) Sélection des animaux à prélever.....	31
b) Choix du contenant et du conservateur	31
c) Choix du système de prélèvement.....	32
d) Déroulement du prélèvement.....	32
e) Mode de stockage.....	34
2. Evaluation de la viabilité des hématies.....	34
a) Choix des paramètres évalués.....	34
b) Méthode d'évaluation.....	34
c) Résultats.....	34
i. Etude biochimique.....	34
ii. Etude hématologique.....	37

d) Discussion.....	41
i. Nos études sont-elles statistiquement reproductibles ?.....	41
ii. Est-il possible de transfuser du sang stocké selon notre protocole ?.....	41
iii. Quelles modifications apporter à notre protocole en vue d'augmenter la longévité des hématies ?.....	42
<u>QUATRIEME PARTIE : UN CAS CLINIQUE D' ANEMIE PAR PERTE</u>	
<u>SANGUINE TRANSFUSE AU CHUVA.....</u>	43
1. Anamnèse et milieu de vie.....	43
2. Commémoratifs.....	43
3. Examens complémentaires.....	43
4. Diagnostic.....	44
5. Traitement.....	44
a) Pour l'anémie.....	44
b) Pour les ulcères digestifs.....	44
6. Evolution.....	44
7. Discussion.....	45
<u>CONCLUSION.....</u>	47
<u>BIBLIOGRAPHIE.....</u>	49
<u>ANNEXE 1 : Formulaire de recrutement de furet donneur de sang.....</u>	53
<u>ANNEXE 2 : Liste du matériel à préparer lors des prélèvements.....</u>	54
<u>ANNEXE 3 : Réalisation d'un frottis sanguin.....</u>	55
<u>ANNEXE 4 : Réalisation d'une transfusion sanguine chez le furet.....</u>	56
<u>ANNEXE 5 : Etude statistique de l'évolution lors du stockage des différents paramètres testés.....</u>	57

Liste des acronymes et abréviations

ACD : Acide Citrate Dextrose

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CHUVA : Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort

CPD : Citrate Phosphate Dextrose

CPDA : Citrate Phosphate Dextrose Adénine

dL : Décilitre

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétracétique

G : Gauge

g : Gramme

Ht : Hématocrite

MGG : May-Grünwald-Giemsa

mL : Millilitre

mm : Millimètre

NAC : Nouvel animal de compagnie

PTV : Post Transfusional Viability

TCMH : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

VGM : Volume Globulaire Moyen

µg : Microgramme

µL : Microlitre

Liste des tableaux

Tableau 1 : Normes hématologiques chez le furet adulte.....	13
Tableau 2 : Normes hématologiques chez le jeune furet.....	13
Tableau 3 : Normes biochimiques chez le furet.....	17

Liste des figures

Figure 1 : Métabolisme des hématies : la glycolyse.....	23
Figure 2 : Evolution de la glycémie au cours du stockage.....	35
Figure 3 : Evolution de la lactatémie au cours du stockage.....	35
Figure 4 : Evolution du pH au cours du stockage.....	36
Figure 5 : Evolution de la kaliémie au cours du stockage.....	36
Figure 6 : Evolution de la natrémie au cours du stockage.....	37
Figure 7 : Evolution de l'hématocrite au cours du stockage.....	38
Figure 8 : Evolution de l'hématocrite.....	44
Figure 9 : Evolution des protéines totales.....	45

Liste des photographies

Photographie 1 : Réalisation d'une ponction sanguine de la veine cave crâniale.....	21
Photographie 2 : Montage utilisé pour le prélèvement sanguin.....	32
Photographie 3 : Zone de tonte pour la ponction sanguine.....	33
Photographie 4 : Prélèvement sanguin dans la veine cave crâniale à l'aide d'un epijet et d'un tube sous vide.....	33
Photographie 5 : Frottis à j0 grossissement 100.....	38
Photographie 6 : Frottis à j7 grossissement 100.....	39
Photographie 7 : Frottis à j14 grossissement 100.....	39
Photographie 8 : Frottis à j21 grossissement 100.....	40
Photographie 9 : Frottis à j28 grossissement 100.....	40
Photographie 10 : Frottis à j28 grossissement 100.....	41

INTRODUCTION

La transfusion sanguine est un acte qui est apparu dans les années 1400 en médecine humaine. La découverte des groupes sanguins vers 1900 et des différents conservateurs a permis la création de la première banque de sang humain en 1937 à Chicago.

Dans les années 1950, les premières transfusions sanguines chez le chien puis chez le chat ont eu lieu. Aujourd'hui, il existe des banques de sang dans l'espèce canine et féline et les transfusions dans ces espèces sont devenues des actes courants.

Le furet est devenu un animal de compagnie très répandu en Europe et aux Etats-Unis. Les soins vétérinaires apportés à cette espèce sont de plus en plus techniques. Des transfusions de sang frais total sont déjà réalisées dans certains hôpitaux référés pour les nouveaux animaux de compagnie (NAC). Il n'existe cependant pas de banque de sang pour les furets. Chaque transfusion nécessite donc de trouver un donneur. La constitution de banques de sang serait un atout majeur dans les soins apportés aux furets et permettrait une prise en charge rapide des cas d'anémie sévère.

Le stockage du sang de furet n'ayant jamais été étudié, nous avons décidé de mettre en place un protocole de prélèvement et de conservation du sang total chez le furet et de l'évaluer *in vitro* par des analyses biochimiques et hématologiques.

Après l'étude bibliographique de la transfusion sanguine chez le furet et des conditions de stockage du sang dans les autres espèces, seront exposés les résultats du stockage de sang de furet et un cas clinique de transfusion.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA TRANSFUSION CHEZ LE FURET

La transfusion chez le furet est étudiée depuis une vingtaine d'années. Différentes publications en expliquent les indications et le déroulement.

1. Indications

La transfusion sanguine a pour indication principale l'anémie qui se définit comme la diminution du taux d'hémoglobine fonctionnelle circulante. Chez le furet, le taux d'hémoglobine est d'environ 17g/dL (THORNTON *et al.* (1979)), bien plus élevé que chez les autres carnivores domestiques. L'hématocrite normal est aussi plus élevé que chez le chien et le chat. Selon le sexe et le type de l'animal (albinos ou putoisé), les valeurs vont de 35 à 60%. On considère que l'animal présente une anémie très sévère et doit être transfusé quand l'hématocrite est inférieur à 15%.

a) Eléments cliniques et hématologiques indiquant une anémie

i. Eléments cliniques

La pâleur des muqueuses, la tachypnée, et la tachycardie sont des symptômes caractéristiques de l'anémie. Ils doivent amener le clinicien à réaliser un prélèvement sanguin en vue de déterminer le taux d'hémoglobine de l'animal, une numération formule sanguine et un frottis.

ii. Prélèvement sanguin

Selon DYER et CERVASIO (2008), pour réaliser ces examens, 0,5mL de sang sont nécessaires. Le prélèvement peut se faire à la veine céphalique, à la veine jugulaire ou à la veine cave crâniale, à l'aide d'une seringue de 1mL et d'une aiguille de 20 ou 25G. Les techniques de contention de l'animal lors des prélèvements sanguins sont décrites plus loin.

Le sang recueilli est rapidement mis dans un tube contenant un anticoagulant, en général de l'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétraacétique). Les tubes utilisés chez le chien et le chat ne sont pas adaptés au furet, dans le cas d'un prélèvement de faible volume. La quantité d'anticoagulant est en effet trop importante, ce qui engendre une dilution du prélèvement qui fausse les valeurs. Les tubes miniatures utilisés en pédiatrie humaine sont les plus adaptés en médecine des nouveaux animaux de compagnie. Ils contiennent des anticoagulants lyophilisés n'entraînant pas de phénomène de dilution.

iii. Examens complémentaires

Le temps de sédimentation des érythrocytes est plus faible chez le furet que chez les autres espèces. Ainsi, la centrifugation devra être plus longue lors de la réalisation d'un microhématocrite (FOX *et al.* (1994)).

La numération formule sanguine est le plus souvent réalisée à l'aide d'un automate qu'il faut calibrer en fonction de l'espèce dont provient le prélèvement. On réalise systématiquement un frottis pour accompagner une formule sanguine réalisée par automate.

Pour réaliser le frottis, une goutte de sang est déposée à l'extrémité d'une lame rodée dite support. Une seconde lame rodée est amenée vers la goutte de sang avec un angle de 45°. Une fois le sang réparti le long de cette lame, elle est glissée vers l'autre extrémité de la lame support. Le frottis est réussi si on obtient une forme en fusée. Après séchage et coloration au May-Grünwald et Giemsa (MGG), la lecture du frottis peut avoir lieu. Elle se fait en queue de frottis, car les cellules y sont bien individualisées, au microscope au grossissement 100 avec huile à immersion. (ANNEXE 3)

Les hématies de furets ressemblent beaucoup à celles des autres carnivores domestiques. Ce sont des cellules discoïdes, biconcaves anucléées sans organites intracellulaires. Leur diamètre est d'environ 6 micromètres avec des variations de 4 à 8 micromètres. Dans 5% des hématies au maximum chez un furet sain, des résidus nucléaires appelés corps de Howell-Jolly, colorés en violet au MGG peuvent être présents. (THORNTON *et al.* (1979))

En cas d'anémie régénérative, la moelle osseuse va produire un plus grand nombre de réticulocytes. Ils sont mis en évidence à l'aide de bleu de méthylène ou de bleu de crésyl brillant.

iii. Normes hématologiques

Chez le furet, les normes hématologiques varient en fonction de l'âge, du sexe, de l'oestrus, et de la robe du furet étudié (putoisé/ albinos). Pour étudier la numération formule d'un furet, il faut donc tenir compte de tous ces éléments. Dans leurs études, Thornton et al, Lee et al, Fox et al ont utilisé des conditions très différentes de prélèvements de sang. Les valeurs obtenues ne sont donc pas comparables. Sont donc utilisées classiquement l'une ou l'autre partie du tableau 1 selon que le furet est albinos ou putoisé.

Tableau 1 : Normes hématologiques chez le furet adulte

	Thornton <i>et al.</i> (1979)		Lee <i>et al.</i> (1982)			Fox <i>et al.</i> (2002)		
	Furet albinos		Furet putoisé			Furet putoisé		
	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle entier	Mâle castré	Mâle 5/6mois	Femelle hors oestrus	Femelle en oestrus
Hématocrite (%)	42-55	44-61	47-51	36-50	46-57	42,3	39,1	38,8
Hémoglobine (g/dL)	14,8-17,4	16,3-18,2	15,2-17,4	12-16,3	15,2-17,7	15,5	14,5	13,4
Hématies (10 ⁶ /mm ³)	6,7-9,7	7,3-12	9,3	9,67	9,67	9,1	8,2	8,3
VGM (µm ³)	61	54	-	-	-	-	-	-
TCMH (µg)	19,9	17,6	-	-	-	-	-	-
CCMH (%)	32,8	32,2	-	-	-	37	37	34,5
Leucocytes (10 ³ /mm ³)	4-18,2	4,4-19,1	2,5-8,6	7,7-15,4	5,6-10,8	8,4	7,2	5,7
Granulocytes neutrophiles (10 ³ /mm ³)	6,3	5,5	0,72-2,4	2,7-8,7	0,61-7,02	3,8	4,2	2,5
Lymphocytes (10 ³ /mm ³)	3,5	3,5	1,47-5,59	3,15-7,8	1,72-4,7	3,8	2,5	2,7
Monocytes (10 ³ /mm ³)	0,46	0,42	0,1-0,37	0,38-0,92	0-0,0432	0,2	0,1	0,1
Granulocytes eosinophiles (10 ³ /mm ³)	0,27	0,23	0,05-0,51	0-0,76	0,11-0,76	0,5	0,3	0,2
Granulocytes basophiles (10 ³ /mm ³)	0,021	0,097	0-0,17	0-0,3	0-0,11	0	0	0
Thrombocytes (10 ³ /mm ³)	310-910	297-730	-	-	-	476	631	429

Chez le jeune, les valeurs hématologiques sont différentes de chez l'adulte. Le tableau 2 est alors utilisé comme référence, sans distinctions toutefois entre furet putoisé ou albinos.

Tableau 2 : Normes hématologiques chez le jeune furet

	Fox <i>et al.</i> (2002)				
	Furet putoisé mâle			Furet putoisé femelle	
	10 semaines	12 semaines	14 semaines	10 semaines	12 semaines
Hématocrite (%)	32,9	33,4	39,1	32,1	34,1
Hémoglobine (g/dL)	11,8	12	14,3	11,5	12,2
Hématies (10 ⁶ /mm ³)	6,4	6,4	8,2	6,1	6,4
CCMH (%)	35,7	35,9	36,9	35,7	35,8
Leucocytes (10 ³ /mm ³)	8	8,4	9,5	9,2	6,7
Neutrophiles (10 ³ /mm ³)	2,7	3,5	3,5	2,6	1,9
Lymphocytes (10 ³ /mm ³)	4,4	3,9	4,9	5,6	4,1
Monocytes (10 ³ /mm ³)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
Eosinophiles (10 ³ /mm ³)	0,3	0,4	0,5	0,4	0,2
Basophiles (10 ³ /mm ³)	0	0	0	0	0
Thrombocytes (10 ³ /mm ³)	696	560	506	665	654

b) Principales affections nécessitant une transfusion sanguine

D'après LEFEVRE (2010), les transfusions chez le furet sont utilisées dans les cas d'anémie sévère. L'anémie est un symptôme présent dans un certain nombre d'affections. On peut différencier les anémies régénératives des anémies arégénératives. Chez le furet, aucune norme n'a encore été établie concernant le nombre normal de réticulocytes circulants. En pratique, est considérée comme régénérative toute anémie pour laquelle on observe des réticulocytes sur le frottis sanguin coloré au bleu de crésyl brillant et dont la numération formule se normalise au cours du temps.

i. Etiologie des anémies régénératives

Les anémies régénératives sont dues à une atteinte périphérique des érythrocytes. On distingue ainsi :

- **Les anémies par pertes sanguines** : elles sont caractérisées sur la numération formule et sur le frottis par une normochromie et une érythroblastose. Après quelques jours, on observe une anisocytose et une polychromasie avec de nombreux réticulocytes et un VGM (Volume Globulaire Moyen) plus élevé (COWEL *et al.* (1999)).

Ces anémies sont observées en cas de spoliation lors d'infestation massive par des parasites hématophages, ou lors d'hémorragies.

Les furets sont très agiles mais évaluent très mal les hauteurs. Ainsi, les traumatismes sont courants dans cette espèce et ils peuvent avoir pour conséquences des hémorragies.

Des hémorragies peuvent également survenir lors d'interventions chirurgicales. L'hémostase doit alors être parfaite (BOUSSARIE (2008)).

Parfois, l'hémorragie est due à un trouble de la coagulation. Ainsi, les intoxications aux anti-coagulants (raticides...) sont assez courantes chez les furets car leur comportement exploratoire est essentiellement oral. Les signes cliniques courants d'un trouble de la coagulation sont des pétéchies, des hématomes, et parfois des hémorragies. Pour évaluer cette piste, il faut mesurer le temps de Quick. Il doit être compris entre 8 et 16,5 secondes (BOUSSARIE (2008)). Le traitement consiste en l'administration de vitamine K1 associée à une transfusion si l'hématocrite est inférieur à 15%.

Le furet est également très sujet aux ulcères gastriques. Leur survenue est favorisée par un mauvais environnement ou un rythme d'alimentation non adapté : il est conseillé de donner une alimentation à volonté au furet. Les ulcères peuvent également être dus à l'administration inappropriée (dose, fréquence, durée) de médicaments (Anti-inflammatoires non stéroïdiens, corticoïdes), à une infection par *Helicobacter mustelae* qui prédispose par la survenue d'une gastrite superficielle et d'une hypergastrinémie postprandiale à la formation d'ulcères (Fox *et al.* (2002)), ou à un phénomène néoplasique (mastocytome systémique, gastrinome). Enfin, des maladies métaboliques comme l'insuffisance rénale peuvent par altération de la muqueuse digestive causer la survenue d'ulcères gastriques.

- **Les anémies hémolytiques** sont peu courantes chez le furet. L'examen clinique et l'observation du sérum révèlent un ictère, témoin de la destruction des hématies, et souvent une hépatomégalie et une splénomégalie. Sur le frottis, des schizocytes, des fantômes globulaires et des sphérocytes sont observés.

L'existence de maladies auto-immunes n'a pas été prouvée chez le furet.

Une longue exposition à des métaux lourds comme le zinc, le cuivre et le plomb peut également être à l'origine d'hémolyse. Fox *et al.* ont montré en 1994 l'existence d'une sensibilité plus importante au cuivre chez certains individus. Une origine génétique comme chez les chiens de races West Highland White Terrier ou Bedlington Terrier est suspectée.

- **Les anémies par séquestration** sont dues à un hypersplénisme idiopathique, qui consiste en une splénomégalie et une pancytopenie qui ne régresse qu'après splénectomie. Sur le frottis sanguin, des

hématies fragmentées, en raison d'un temps de passage trop long dans la rate sont mises en évidence.

ii. Etiologie des anémies hypo ou arégénératives

Ces anémies résultent d'un défaut d'érythropoïèse. Elles s'aggravent avec le temps. Sur le frottis, peu de réticulocytes et peu de modifications morphologiques des hématies sont observés.

Des **maladies métaboliques** comme l'insuffisance rénale chronique peuvent entraîner une anémie hyporégénérative par défaut de synthèse d'érythropoïétine.

La **maladie aléoutienne du furet** peut entraîner une forte anémie arégénérative. Cette maladie est due à un Parvovirus qui affecte surtout les individus âgés de 2 à 4 ans. De nombreux furets sont porteurs sains et permettent ainsi la transmission de la maladie par contact ou grâce aux sécrétions corporelles (fèces, urine, salive, sang...)

Ce virus entraîne un dépôt de complexes immuns dans les artères, qui a pour conséquences une vascularite systémique et une infiltration lymphoplasmocytaire dans des organes comme la rate et le foie.

L'animal présente un amaigrissement, est anorexique, et a des muqueuses pâles. Selon la localisation des dépôts d'immuns complexes, une diarrhée, une insuffisance rénale, une dyspnée ou des troubles neurologiques peuvent survenir (BOUSSARIE (2008)).

Lors d'**envahissement médullaire** par des cellules tumorales, une anémie arégénérative normochrome normocytaire est présente. Dans les cas de lymphome, 85% des furets présentent une anémie. Dans les quelques cas de leucémie décrits, une forte anémie est toujours associée (FOX (2002)).

MALKA *et al.* (2010) ont décrit un cas d'aplasie **médullaire à médiation immune touchant uniquement la lignée érythroïde** chez une furette de 8 mois. Il s'agit d'une atteinte touchant uniquement les précurseurs des hématies dans la moelle osseuse. Il en résulte une forte anémie arégénérative alors que les thrombocytes et les granulocytes sont produits en quantités normales. Cette atteinte est décrite chez le chien, le chat et l'homme mais il s'agit du seul cas rapporté chez le furet. Dans les autres espèces, cette affection peut être congénitale ou acquise (infection par des rétrovirus ou parvovirus, intoxication médicamenteuse). Le diagnostic se fait par élimination de toutes les autres causes d'anémie arégénérative et par l'établissement d'un myélogramme.

L'**intoxication par les œstrogènes** entraîne une aplasie médullaire par effet toxique direct sur les cellules de la moelle osseuse hématopoïétique. Elle a pour conséquence une anémie souvent très marquée. L'organisme subit une imprégnation oestrogénique dans deux affections :

- L'hyperœstrogénisme :

Le furet est une espèce dont la reproduction est saisonnière. L'ovulation est déclenchée par la stimulation de récepteurs lors de la saillie. Sans accouplement, la femelle reste en œstrus pendant plusieurs mois. L'organisme subit alors une imprégnation œstrogénique.

L'examen hématologique montre une atteinte de toutes les lignées sanguines avec une anémie arégénérative sévère, une leucopénie et une thrombocytopénie.

Un gonflement vulvaire important accompagne fréquemment une alopécie bilatérale symétrique, des muqueuses pâles et parfois des phénomènes hémorragiques (pétéchies, hématomes, méléna...).

L'animal est en général dysorexique et léthargique.

Le traitement nécessite une ovariectomie. L'œstrus peut aussi être supprimé médicalement par une injection d'hormone gonadotrope chorionique humaine (Chorulon®), à la dose de 100UI en intra-musculaire. Lorsque l'animal est trop affaibli, il faut soutenir l'organisme avant et après la chirurgie par une ou plusieurs transfusions sanguines le temps que la moelle osseuse reprenne la production des cellules sanguines.

Cette maladie peut survenir lors de rémanence ovarienne, alors même que la furette a été stérilisée. C'est pourquoi la pratique d'une ovariohystérectomie est recommandée : elle diminue le risque de reliquat ovarien. QUINTON (2009), HOEFER (1992), KOCIBA et CAPUTO (1981), BERNARD *et al.* (1983)

- La maladie surrénalienne : QUINTON (2009), SIPERSTEIN (2008)

Cette maladie est une dysendocrinie qui touche les individus stérilisés. La corticosurrénale s'hypertrophie et produit une grande quantité de stéroïdes sexuels qui sont transformés en œstrogènes dans le tissu adipeux. En général, les résultats de la numération formule sont normaux. Parfois une anémie arégénérative peut survenir, moins sévère toutefois qu'en cas d'hyperœstrogénisme.

L'animal présente les signes cliniques suivants : léthargie, alopecie bilatérale symétrique débutant par l'arrière-train, prurit inconstant, parfois gonflement vulvaire chez les femelles, et dysurie chez les mâles.

Le traitement nécessite l'exérèse chirurgicale de la glande atteinte. Cette opération est délicate du fait de la proximité de la veine cave lors d'atteinte de la glande surrénale droite.

La transfusion est indiquée en cas d'anémie sévère avant l'intervention chirurgicale ou en cas d'hémorragies importantes pendant la surrénalectomie.

2. Prélèvement

Le prélèvement de sang en vue d'une transfusion chez le furet comporte des particularités du fait de sa petite taille et de la compatibilité donneur-receveur.

a) Sélection des donneurs

HOEFER (1992), LICHTENBERGER (2004)

Profil type du donneur

Les études préconisent de sélectionner des donneurs mâles car ils sont en général plus lourds que les femelles, et des individus castrés jeunes car leur peau est plus fine et moins riche en tissu adipeux : le prélèvement est alors plus facile et le volume de sang prélevé plus important..

Examens préalables au prélèvement

Le donneur doit être en bonne santé et l'examen clinique ne doit pas révéler d'anomalies. Une ponction sanguine (veine cave crâniale, saphène ou céphalique) permet de réaliser un hémogramme et un examen biochimique. L'hématocrite ne doit pas être inférieur aux normes. Le tableau 3 présente les normes biochimiques à utiliser.

Tableau 3 : Normes biochimiques chez le furet

	Etude de Lee <i>et al.</i> (1982) chez des furets putoisés		
	Femelle	Mâle	Mâle castré
Hématocrite (%)	47-51	36-50	46-57
Hémoglobine (g/dL)	15,2-17,4	12,0-16,3	15,2-17,7
Protéine (g/dL)	5,6-7,2	5,3-6,2	5,4-6,4
Albumine (g/dL)	3,3-4,1	3,5-3,8	3,4-4
BUN (mg/dL)	15-43	12-28	21-42
PAL(mU/mL)	30-62	43-67	30-120
ALAT (mU/mL)	110-240	82-289	82-287
Glucose (mg/dL)	85-134	90-122	62,5-116
Créatinine (mg/dL)	0,3-0,45	0,2-0,6	0,25-0,35

Le donneur doit être correctement vacciné contre la maladie de Carré; le vaccin contre la rage est à considérer en fonction du lieu de vie du furet.

Certaines maladies doivent également être recherchées chez tous les donneurs potentiels : le parvovirus responsable de la maladie aléoutienne, et les microfilaires (*Dirofilaria immitis*) en zone endémique.

b) Compatibilité donneur-receveur et groupes sanguins chez le furet

Dans la plupart des espèces, avant une transfusion sanguine se pose le problème de la compatibilité du donneur et du receveur. Différents groupes sanguins existent et des tests de compatibilité (cross match) sont indispensables avant la réalisation de la transfusion.

Pour déterminer la présence de groupes sanguins chez le furet, MANNING et BELL (1990) ont mené l'étude suivante :

Matériel et méthode : Vingt-trois furets ont été sélectionnés, vingt de type Marshall et trois de type Wisconsin. Les furets Marshall et les furets Wisconsin ne sont pas liés génétiquement.

Les auteurs ont cherché à mettre en évidence la présence d'anticorps anti groupes sanguins par un test de réactivité entre du sérum et des érythrocytes purifiés.

Ils ont tout d'abord testé la réactivité croisée de dix furets Marshall et de trois furets Wisconsin. Ensuite, ils ont testé la réactivité de huit autres furets Marshall. Ainsi 220 combinaisons sérum/érythrocytes ont été examinées.

Deux tentatives ont été menées pour induire la fabrication d'anticorps, la première par inoculation intraveineuse (transfusion sanguine), la seconde par inoculation de sang sous-cutanée. D'après SAISON (1962) cette voie permet de produire une forte quantité d' anticorps chez le vison.

Les furets sont appariés en dix paires pour recevoir des échanges de sang réciproques :

- six paires ont reçu deux transfusions réciproques à 34 jours d'intervalle. Ces furets ont été testés 21 jours après la première transfusion et dix et trente jours après la seconde. Les prélèvements sont faits sous anesthésie générale (acépromazine/kétamine), en intra-cardiaque, dans une seringue avec ACD (1mL/6mL de sang) et immédiatement réinjectés dans la veine jugulaire du furet receveur.

- quatre paires ont reçu des inoculations sous cutanées de sang deux fois par semaine pendant trois semaines et ont été testés huit jours après la dernière inoculation. Les prélèvements sont faits dans la veine jugulaire sous anesthésie générale, inoculés en sous-cutané en deux points au niveau thoracique.

Les tests sérologiques sont effectués avec du sang prélevé dans la veine jugulaire sous anesthésie générale. On place immédiatement 0,5mL de sang dans une solution d'Alsever, pour récolter les érythrocytes. Le reste est centrifugé pour récupérer le sérum. Les érythrocytes sont lavés 3 fois dans du PBSS (Phosphate Buffered Saline Solution) puis remis en solution pour obtenir une concentration de 2%.

Un test d'agglutination direct entre une mesure de sérum et une mesure de solution à 2% est réalisé dans un tube, incubé 15 minutes à 37°C puis centrifugé. Les tests sont lus macroscopiquement.

Ils sont ensuite convertis en tests de Coombs par quatre lavages au PBSS et un mélange à quantité égale avec des immunoglobulines G de furet, incubé à 37°C pendant 5 minutes, puis centrifugé. Les tests sont lus macroscopiquement puis au grossissement 40 pour détecter une possible réaction d'agglutination ou de lyse.

Résultats : Tous les tests d'agglutination directs ou indirects sont négatifs. Aucun anticorps anti groupe sanguin n'a pu être mis en évidence chez le furet lors de cette expérience.

Cette expérience indique soit l'absence de groupe sanguin chez le furet, soit une concentration d'anticorps anti groupe sanguin trop faible pour être détectée. Il faut ajouter à cette étude de nombreuses expériences cliniques dont celle de RYLAND (1982) qui donnent le même résultat : Une furette atteinte d'hyperoestrogénisme a reçu 13 transfusions en 7 mois dont 3 du même donneur, sans réaction transfusionnelle notable.

Il est donc admis qu'il n'y a pas de groupes sanguins détectables chez le furet. La transfusion ne nécessite pas de tests de compatibilité préalables, et plusieurs transfusions peuvent être faites entre un même donneur et un patient.

c) Contention du donneur

Pour effectuer un acte nécessitant une totale immobilité chez un furet, une contention physique ou chimique est indispensable.

Contention physique

Selon HYLLIER (1995), chez le furet, une contention ferme est plus concluante qu'un maintien lâche. Le fait de tenir un furet par la peau du cou a un effet calmant.

Selon le site de prélèvement, le furet peut être maintenu en décubitus dorsal ou ventral, avec le cou tendu. Les membres postérieurs doivent être maintenus par les hanches et non par les fémurs car leur traction pousse de nombreux furets à se débattre.

Des friandises peuvent être utilisées comme distraction. Avant de commencer la contention, de la nourriture est placée devant la truffe du furet. Le furet mange pendant la manipulation et ne se débat pas.

Lorsque la contention physique ne suffit pas, que le clinicien est peu expérimenté ou qu'il n'y a qu'un manipulateur, la contention chimique est envisagée.

Contention chimique

Chez le furet, l'utilisation de molécules anesthésiques injectables ou gazeuses est possible. Les spécialistes préconisent pour une anesthésie de courte durée, une sédation à l'aide d'agents volatils car la profondeur de l'anesthésie est mieux contrôlée. De plus, la rapidité et la sécurité de l'induction et du réveil sont plus importantes avec des molécules volatiles. Toutefois les agents injectables sont quand même utilisables si aucun gaz anesthésique n'est disponible.

Utilisation d'anesthésiques injectables : LICHTENBERGER (2004) et HYLLIER (1995)

Le propofol peut être utilisé à une dose de 4-6mg/kg IV. L'induction et le réveil sont rapides mais son utilisation nécessite la pose préalable d'un cathéter.

D'autres agents peuvent être utilisés : Toutefois, le niveau de tranquillisation et de relaxation musculaire est moins fiable. De plus, le réveil de l'animal est plus lent. Différentes combinaisons sont possibles : kétamine-acépromazine, tilétamine-zolazepam...

Contention gazeuse : utilisation de l'isoflurane ou du sévoflurane

Certains auteurs (HOEFER (1992), HYLLIER (1995)) préconisent une anesthésie gazeuse à l'isoflurane : ce gaz permet une immobilisation de courte durée idéale pour une ponction veineuse. De plus, l'utilisation de l'isoflurane est considérée comme sûre dans cette espèce. Il peut aussi être utilisé chez le receveur même en cas d'anémie ou de dyspnée.

Cependant, deux études de MARINI *et al.* (1994 et 1997) montrent que l'utilisation d'isoflurane à 2% pendant 15 minutes comme anesthésique chez le furet entraîne une diminution de l'hématocrite de 36%, du nombre d'hématies de 24% et de la concentration en hémoglobine de 22%. Ceci est dû notamment à une dépression du système autonome entraînant une séquestration des érythrocytes par la rate. L'administration de phényléphrine et le réveil de l'animal contrent en partie les effets de l'isoflurane mais de façon variable selon les individus.

LAWSON *et al.* (2006) ont comparé dans une étude les effets de l'isoflurane et du sévoflurane sur l'hématocrite, la pression artérielle systolique et le rythme cardiaque de furets en bonne santé. La durée et la qualité de l'induction et du réveil ont également été évaluées pour ces deux agents. Les furets étaient placés sous masque sans prémédication. Aucune différence significative entre les deux agents n'a été démontrée concernant tous les paramètres testés.

L'utilisation d'isoflurane ou de sévoflurane est donc préconisée pour l'anesthésie du donneur de par leur sécurité d'utilisation et leur rapidité. L'anesthésie précédant le prélèvement doit cependant être de courte durée afin d'éviter une séquestration trop massive d'hématies dans la rate du donneur.

d) Volume à prélever et matériel nécessaire

(HOEFER (1992), HYLLIER (1995))

Le volume sanguin d'un furet représente environ 6% du poids total de l'animal et jusqu'à 20% du volume sanguin peut être prélevé sans mettre en danger la vie du donneur soit 1,2% de son poids total. Pour un furet de 1,2 kg, on peut donc prélever jusqu'à 14,4 mL de sang.

Les transfusions de furets sont presque toujours des transfusions de sang frais total. Le matériel nécessaire est disponible dans tous les cabinets vétérinaires :

- Compresse,
- Antiseptique type chlorhexidine,
- Microtubes secs, héparinés, EDTA pour analyses biochimiques,
- Seringue de 1mL,
- Aiguilles de 20 à 27G,
- Cathéters à ailette de 18 à 25G,
- Seringue de 12 mL,
- Un conservateur placé directement dans la seringue de prélèvement : Acide Citrate Dextrose (ACD) (1mL pour 7mL de sang), Citrate Phosphate Dextrose Adénine (CPDA) (1mL pour 6 à 9 mL de sang), Citrate Phosphate Dextrose (CPD) (1mL pour 7 mL de sang),
- NaCl 0,9%,
- Microfiltre.

e) Préparation et choix du site de prélèvement

(HOEFER (1992), HYLLIER (1995), LICHTENBERGER (2004), QUINTON (2009))

Le prélèvement sanguin doit se faire de façon aseptique : le site de ponction doit être tondu et désinfecté à plusieurs reprises avec un produit iodé ou de la chlorhexidine.

Le sang est ensuite collecté directement dans une seringue de 12 mL contenant un anticoagulant.

Plusieurs sites sont possibles pour la ponction d'un grand volume de sang :

La veine jugulaire est la plus grosse veine superficielle du furet. Elle est située du côté ventrolatéral du cou. On utilise un cathéter à ailette ou une aiguille de 20 à 22G directement reliés à la seringue de 12 mL. Deux contentions sont possibles :

- Le furet est maintenu en décubitus ventral au bord d'une table. Les membres antérieurs sont maintenus verticaux le long de la table et le cou est tendu à la verticale de manière à bien dégager le site de ponction. Un deuxième assistant peut maintenir le bassin et les membres postérieurs. Dans cette position, il faut faire attention à ne pas collaber la veine par une trop forte aspiration. Le flux sanguin est rapide dans un premier temps puis se ralentit au fur et à mesure de la ponction.
- Le furet est maintenu en décubitus dorsal, la tête étendue, les membres antérieurs tirés caudalement. Dans cette position, la veine jugulaire a tendance à rouler. Il faut maintenir une tension sur la peau pour stabiliser la veine.

La veine cave crâniale est un site privilégié pour les dons de sang car le flux sanguin est important ce qui permet un prélèvement rapide. Le furet est placé en décubitus dorsal, la tête est maintenue au niveau des mâchoires ou par la peau du cou, et les membres antérieurs sont tirés caudalement. La position doit être précise et symétrique, les membres postérieurs sont fermement maintenus. La veine cave crâniale est ponctionnée à l'aveugle, en suivant des repères anatomiques précis : On enfonce une aiguille de 25G dans l'espace entre le manubrium sternal et la première côte et on dirige l'aiguille vers le membre postérieur opposé avec un angle d'environ 45°. Une fois l'aiguille enfoncée, on la retire doucement tout en maintenant une pression négative jusqu'à ce que le sang se collecte dans la seringue. Chez le furet, le cœur est très éloigné de ce site, le prélèvement est donc sûr chez un animal sain. Si on suspecte une atteinte du thorax crânial (mégaoesophage, masse) ou que le furet n'est pas parfaitement immobile, il vaut mieux utiliser un autre site de prélèvement. La photographie 1 montre la réalisation d'une ponction sanguine de la veine cave crâniale sur un furet anesthésié à l'aide d'un epijet et d'un tube sous vide.

Photographie 1 : Réalisation d'une ponction sanguine de la veine cave crâniale



Le cœur est un site de prélèvement parfois utilisé par les chercheurs et quelques cliniciens. Le prélèvement peut être effectué uniquement si l'animal est anesthésié. Le furet est maintenu en décubitus latéral droit, on ponctionne en arrière de la pointe du coude. Ce site est à éviter pour les furets de compagnie.

Le sinus rétro-orbitaire est un site peu utilisé mais qui semble permettre des prélèvements assez fréquents, faciles et de quantité importante. Un capillaire hépariné cassé en son milieu est inséré dans le cantus médial de l'œil. Il est alors enfoncé dans les tissus adipeux et fibreux du sinus orbitaire avec une pression constante et assez forte. Le sang est directement recueilli dans le contenant approprié. Cette technique a été répétée pendant des mois sans engendrer de séquelles par FOX *et al.* (1984).

f) Soins apportés au donneur après le prélèvement

LEWINGTON (2008) , MANING et BELL (1990), BOUSSARIE (2008)

Si le donneur était anesthésié, le réveil doit être surveillé. On place le donneur en cage, sous lampe infra-rouge. Pour prévenir une hypotension possible, on administre par voie intraveineuse un liquide de remplacement (NaCL 0,9% par exemple) tiédi à raison de 4mL par kilogramme et par heure pendant au moins trois heures. Le volume administré doit être égal à quatre fois le volume de sang prélevé.

3. Administration du sang au receveur

a) Préparation du receveur et du sang à transfuser

LEWINGTON (2008) et LICHTENBERGER (2004)

Le receveur est en général hospitalisé avant de recevoir une transfusion sanguine. Aucun traitement immunomodulateur de type antihistaminique ou corticoïdes n'est nécessaire, leur efficacité n'ayant jamais été prouvée.

La contention physique est en général suffisante pour placer le cathéter au site d'injection choisi.

Le site d'injection doit être tondu et nettoyé de la même façon que le site de prélèvement.

b) Sites d'injections

Injection intra-veineuse

Le mode d'injection à privilégier est l'intra-veineuse du fait de la rapidité du résultat. Le site d'injection optimal est la veine jugulaire. Un cathéter à ailette permet une administration lente du volume de sang. De nombreux furets tolèrent assez bien un cathéter dans la veine céphalique mais ils sont plus difficiles à placer en raison de l'épaisseur de la peau du furet : une scarification de la peau peut être nécessaire avant de poser le cathéter.

Injection intra-osseuse

Si aucune veine n'est disponible pour la mise en place d'un cathéter, la voie intra-osseuse peut être utilisée. Le receveur doit être sédaté pour cette technique. Une aiguille de 20G flushée avec l'anticoagulant est insérée de façon aseptique dans le fémur du patient. Le volume de sang est alors lentement administré dans la moelle osseuse.

c) Volume à transfuser et rythme d'administration

Le volume à transfuser est calculé selon la même formule que chez les autres carnivores domestiques d'après LICHTENBERGER (2004).
Ht : Hématocrite

$$\text{Volume de sang à transfuser} = \text{Poids (en livre)} \times 30 \times (\text{Ht}_{\text{désiré}} - \text{Ht}_{\text{patient}}) / \text{Ht}_{\text{donneur}}$$

Pour un receveur d'1kg, avec Ht=15% et un donneur avec un Ht de 45%, si on veut obtenir un Ht =25%, il faut transfuser un volume de 14,7 mL.

Le sang prélevé doit être maintenu à 37°C dans un bain marie afin de limiter l'hypothermie du receveur. Un filtre limitant le passage des agrégats doit être utilisé idéalement. Le sang prélevé doit être administré en moins de 4h pour limiter la prolifération bactérienne dans le prélèvement d'après les recommandations de l'American Association of Blood Banks.

Un rythme de 0,5 à 1mL toutes les minutes est conseillé, administré par bolus ou à l'aide d'un pousse seringue. Pendant toute la transfusion, une attention particulière doit être portée au receveur.

d) Réactions transfusionnelles

Aucune réaction transfusionnelle n'a été mise en évidence chez le furet, et ce même en cas de transfusion multiple provenant d'un même donneur.

Bilan : Chez le furet, les transfusions de sang frais total sont couramment employées dans les cas d'anémie sévère. Du fait de l'absence de groupes sanguins, il n'est pas nécessaire de réaliser des tests de compatibilités et les réactions transfusionnelles sont inexistantes. L'annexe 4 résume les points principaux à connaître pour réaliser une transfusion sanguine dans cette espèce.

Le sang de furet est très rarement stocké et aucune banque de sang n'est répertoriée dans cette espèce. Quelques articles ou ouvrages mentionnent l'utilisation des mêmes conservateurs que chez les autres espèces de carnivores domestiques mais aucune étude n'a à ce jour été menée.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA CONSERVATION DES HEMATIES LORS DU STOCKAGE, EN VUE D'UNE TRANSFUSION

Lorsque les produits sanguins ont commencé à être stockés en vue de créer des banques de sang, différentes difficultés se sont posées :

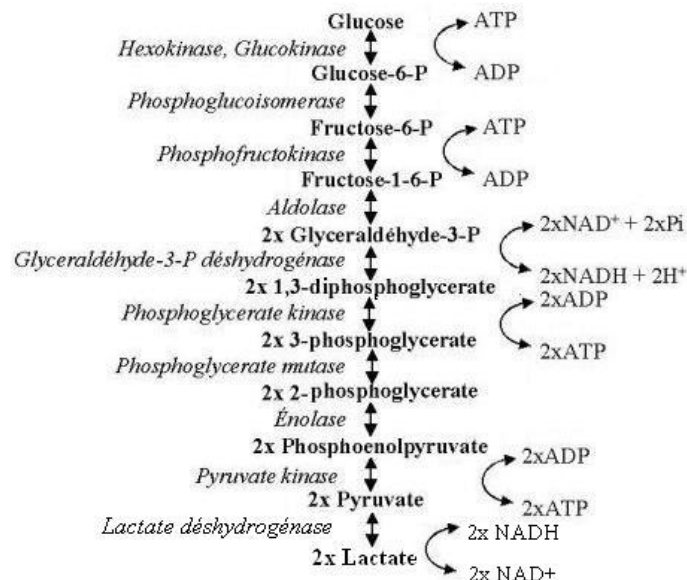
- conserver les composants sanguins et surtout les hématies intacts,
- éviter les proliférations bactériennes,
- maintenir des propriétés physico-chimiques compatibles avec une administration intraveineuse (pH, concentrations ioniques...).

GABRIO (1954 et 1956) a montré que le stockage était responsable de dommages infligés aux hématies, et que les plus jeunes hématies y étaient plus sensibles. La disparition d'hématies lors du stockage est donc différente de la sénescence normale des hématies *in vivo*. Des recherches en cours visent à améliorer la survie des hématies par des meilleures conditions de stockage.

1. Métabolisme des hématies en conditions physiologiques

Selon WARDROP (1995), la viabilité des hématies dépend beaucoup de leur capacité à conserver un métabolisme normal. Ce métabolisme suit différentes voies présentées sur la figure 1 :

Figure 1 : Métabolisme des hématies : la glycolyse



Le glucose est à la base du métabolisme des hématies. La voie de Embden-Meyerhof ou glycolyse permet la production d'ATP, de lactate et de NADHH⁺. Le NADHH⁺ permet la conservation de l'hémoglobine dans un état réduit et fonctionnel. La voie des pentoses permet quand à elle la formation de NADPHH⁺ qui permet la lutte contre le stress oxydatif. Une autre voie permet la production de 2,3diphosphoglycérate. Celui-ci se fixe à la sous unité Beta de l'hémoglobine ce qui stabilise la conformation « faible-affinité pour l'oxygène » de celle-ci. Ainsi lorsque la quantité de 2,3 DPG augmente dans le globule rouge, l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène diminue et la quantité d'oxygène relargué augmente pour un pH et une PO₂ (pression partielle en oxygène) donnés.

Lors du stockage des hématies, le taux de glucose diminue et les concentrations en ATP et 2,3diPG diminuent aussi. Le taux de lactate augmente.

Pour tenter d'optimiser le métabolisme des hématies stockées, différents conservateurs ont été mis en place. Leur rôle est de limiter au maximum les variations ioniques et moléculaires.

2. Anticoagulants, conservateurs et contenants disponibles

a) Les anticoagulants et les conservateurs

WARDROP (1995)

Au début de l'histoire des transfusions, ni coagulants ni conservateurs n'étaient utilisés. Le prélèvement et la transfusion étaient simultanés, grâce à l'utilisation d'un shunt artérioveineux entre le donneur et le receveur.

L'héparine est un des premiers anticoagulants utilisé pour les transfusions. Elle prévient la coagulation par liaison avec l'antithrombine III *in vitro* et *in vivo*. Une dose de 5 à 10 unités par mL de sang est suffisante. L'héparine n'a pas de propriété de conservation du sang et le sang hépariné doit donc être transfusé très rapidement après le prélèvement. L'utilisation de l'héparine n'est pas recommandée pour le stockage des produits sanguins. Par ailleurs, l'héparine est un anticoagulant *in vitro* et *in vivo*. Elle entraîne donc un défaut de coagulation chez le receveur, malgré l'effet de dilution. Elle n'est donc pas à privilégier.

Le sodium citraté (3,8%) est utilisé à la dose de 1mL pour 9 mL de sang. Le citrate prévient la coagulation par chélation du calcium. Il n'a pas non plus de propriétés de conservation et est recommandé seulement dans les cas de transfusion de sang frais.

Les produits suivants qui sont utilisés chez le chien et le chat contiennent tous du citrate comme anticoagulant et du dextrose comme source de glucose afin d'optimiser la conservation des hématies.

L'acide citrique de sodium(ACD) est un anticoagulant conservateur du sang. Il a été utilisé couramment pour le stockage du sang dans les banques de sang canine et féline. Aujourd'hui on l'utilise encore lors de transfusions de petits volumes. Il existe deux formulations : ACD A est utilisé à la dose 1mL pour 7 à 9mL de sang, surtout dans les cas de transfusions de sang frais complet chez le chat. ACD B a une teneur réduite en citrate et est utilisé à la dose de 1mL pour 4mL de sang surtout dans les cas de plasmaphérèse-cytophérèse chez l'homme. On peut conserver du sang de chat 4 semaines dans l'ACD B alors que le sang de chien n'est plus viable après 3 semaines de stockage.

Le Citrate-Phosphate-Dextrose (CPD) permet de maintenir une concentration plus forte en 2,3diPG et un pH plus alcalin que l'ACD. Il est couramment employé pour le stockage du sang complet dans les espèces canine et féline.

Le Citrate-Phosphate-Dextrose-Adénine (CPDA) est une solution anticoagulante et conservatrice que l'on trouve dans des systèmes de prélèvements commercialisés sous la forme de poches. Ce conservateur est très utilisé pour le stockage de sang canin, moins fréquemment chez le chat du fait de la taille importante des poches. Le CPDA contient de l'adénine que les hématies peuvent utiliser pour fabriquer de l'ATP, l'adénine. Le CPDA 1 est généralement utilisé à un ratio de 1 pour 7 mL de sang. Le sang de chien peut ainsi être conservé pendant 35 jours.

Chez le furet, seuls quelques cas de stockage de sang sont rapportés dans la littérature. Le même protocole que chez le chien ou le chat pourrait être utilisé d'après QUESENBERRY et CARPENTER (1997) et MORISEY(2000). Ainsi, DUTTON (1999) a stocké du sang de furet avec du CPDA-1 (1mL pour 5mL de sang) pendant 30 jours dans un réfrigérateur, sans effets secondaires apparents sur le receveur. D'après WARDROP (1995), le temps de stockage de sang d'espèces différentes dans les mêmes conditions doit être évalué par des études précises car il peut être très différent.

b) Les contenants

Différents contenants ont été utilisés depuis le début de la transfusion : les bouteilles en verre, les seringues, les bouteilles en plastique puis les poches en plastique.

Des études ont été menées afin de déterminer quel contenant permettait la meilleure conservation des hématies. WARDROP (1997) et EISENBRANDT (1973(a))

Par une étude *in vitro* sur la conservation du sang total de chien avec ACD ou CPD utilisant les mesures de pH, de concentration en ATP et en 2,3diPG des hématies, Eisenbrandt et Smith (1973) ont prouvé que la viabilité des hématies était plus importante lors d'une conservation en poche de plastique, puis en bouteille en plastique puis en bouteille de verre. Le stockage en bouteille de verre causerait davantage de traumatismes aux hématies. De plus, les poches en plastique sont jugées plus pratiques, moins fragiles et moins encombrantes. Leur utilisation est donc recommandée.

Cependant, il est difficile d'utiliser ces poches pour des prélèvements de faibles volumes. Dans ce cas, d'autres contenants doivent être envisagés.

Ainsi en médecine pédiatrique, PODLOSKY *et al.* (2008) ont stocké du sang humain dans des seringues en plastiques contenant du SAG-M (saline, adénine glucose mannitol). Par des études *in vitro*, ils ont montré qu'un stockage de 24h en seringue en plastique n'avait pas plus d'effet délétère qu'un stockage en poche en plastique.

Les poches existantes sont de trop grand volume pour le stockage de sang de furet. Les seringues ne constituent pas un milieu stérile pour un stockage sur plusieurs semaines. Un autre contenant doit donc être envisagé.

3. Modifications des hématies pendant leur stockage : « The storage lesion »

Les lésions de stockage regroupent l'ensemble des modifications qui touchent les composants sanguins pendant leur stockage.

a) Modifications métaboliques

Les protons et l'acide lactique produits par la glycolyse sont responsables d'une légère **acidification du milieu de stockage et des hématies**. *In vivo*, le pH sanguin est bien régulé et sa valeur ne varie que très peu autour de 7,35. Lors du stockage, le pH diminue. De plus, les milieux de stockage utilisés ont un pH acide (5,5 à 5,8 pour le CPD). Le pH du mélange sang-milieu de conservation est donc bien plus acide que le pH sanguin physiologique et sa valeur atteint des valeurs voisines de 7 au premier jour de stockage. Un pH acide favorise le relargage de l'oxygène aux tissus cibles mais ralentit aussi le métabolisme des hématies par inhibition de la phosphofructokinase et de l'hexokinase d'où une diminution des concentrations en ATP et 2,3diPG.

2,3-DPG : Dès 7 jours de stockage, une diminution de la quantité de 2,3DPG est notée, ce qui a pour conséquence une baisse du relargage d'oxygène aux cellules cibles, chez l'homme. En effet, la liaison du 2,3 di PG à l'hémoglobine module de façon allostérique son affinité pour l'oxygène. Ainsi une forte concentration en 2,3diPG favorise le relargage de l'oxygène alors qu'une faible concentration augmente l'affinité de L'Hb pour l'oxygène. D'après LION(2010), la diminution rapide en 2,3diPG serait due à une activation plus importante de la 2,3 diPG phosphatase à faible température. Cependant, l'influence du 2,3diPG varie selon les espèces de mammifères. Ainsi l'influence du 2,3diPG sur l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ chez le chat est faible. Il n'existe pas d'étude spécifique au furet. Le vrai rôle du 2,3diPG sur le stockage des hématies de furet est donc difficile à déterminer selon BUNN (1971). Par ailleurs, une synthèse de 2,3DPG post transfusionnelle se met en place, restaurant ainsi le taux de 2,3DPG en 24h chez l'homme.

ATP : La concentration en ATP diminue lors du stockage. Ceci entraîne un changement de forme des hématies qui abandonnent leur conformation biconcave et deviennent des échinocytes : leur membrane se dote de spicules et de crénations. Si le taux d'ATP est restauré rapidement, les échinocytes peuvent retrouver leur forme physiologique. Dans le cas contraire, si le taux d'ATP diminue de façon exagérée, il y a formation irréversible de sphérocytes par perte de membrane : les spicules se transforment en vésicules transportant de l'hémoglobine, exocytées en dehors de l'hématie. Ceci fait chuter le rapport surface sur volume de l'hématie. Sa teneur en hémoglobine, sa plasticité et sa viabilité diminuent. Ainsi, il a été montré une faible corrélation entre les taux d'ATP du produit de stockage et la viabilité post transfusionnelle, excepté pour des niveaux d'ATP très bas.

Modifications ioniques : D'après LION (2010) aux températures habituelles de stockage (3-4°C), la pompe Na/K est inactive chez le chien et le chat. Cela entraîne un afflux de sodium dans les hématies et une sortie de potassium dans le milieu de stockage. Sur un ionogramme sont à noter une diminution de la natrémie et une augmentation de la kaliémie. D'après FLATMAN (1983), chez le furet, ces modifications ioniques sont dues à la forte perméabilité de la membrane des hématies du furet au potassium (contrairement au chien et au chat). Cette perméabilité s'explique par deux systèmes coexistants : un cotransporteur NaKCl très actif (98 % des échanges de K⁺) et un système plus lent, où le potassium serait lié.

Perte en S-nitrosothiol-haemoglobin (SNO-Hb) : LION(2010), BENNETT-GUERRERO *et al.* (2007) et HESS (2010).

Après un stockage de seulement quelques heures, il a été montré que le SNO-Hb est perdu de l'échantillon. L'érythrocyte ne peut donc plus générer le monoxyde d'azote (NO). Or en milieu physiologique, la vasodilatation lors de pression basse en Oxygène est induite par le NO. Les érythrocytes stockés ont donc une activité vasodilatatrice moins importante que des érythrocytes frais.

b) Modifications membranaires

D'un point de vue moléculaire, KRIEBARDIS et al (2007) ont étudié les **modifications membranaires** intervenant pendant le stockage des hématies. Ils ont montré que certaines protéines comme les canaux carbonate/chlore perdaient leur localisation au cours du stockage. En même temps, ils ont montré une accumulation d'immunoglobine G sur la surface cellulaire, une réorganisation des couches de lipides et de protéines et une oxydation anormale touchant les protéines membranaires. De plus, ils ont remarqué une accumulation et un regroupement de dimères d'hémoglobine sur la face cytosolique de la membrane érythrocytaire. Certains auteurs (LION et al ; (2010)) ont également remarqué que la réorganisation membranaire s'accompagnait parfois d'exposition de phosphatidylsérine en face externe de la membrane. Ceci est lié à une baisse de l'activité de l'aminophospholipide translocase par défaut d'ATP, qui normalement garde à l'intérieur la phosphatidylsérine et inhibe la formation de microvésicules.

Les hématies sont normalement des disques biconcaves, de diamètre 8 μm , et de volume d'environ 90fL. Environ 50% de leur membrane est inutile pour contenir leur volume. Ce supplément de membrane leur permet de se déformer. On observe au cours du stockage une **diminution progressive de la taille des hématies**, liée à l'**émission de microvésicules** contenant de l'hémoglobine. Ces microvésicules sont riches en phospholipides et d'une taille inférieure à 0,5 micromètre. Les microvésicules émises forment différentes populations : certaines sont riches en lipides oxydés, d'autres exposent au milieu extérieur la phosphatidylsérine... Ces vésicules par exposition de lipides chargés négativement peuvent devenir des facteurs proinflammatoires et prothrombotiques. Ce processus est associé à la baisse de pH, de concentration en ATP et à la hausse de la concentration érythrocytaire en calcium. Cette diminution de taille est associée à une **modification de la forme** discoïde de l'hématie qui devient par la formation de spicules un échinocyte (forme réversible par la transfusion) puis finalement un sphéroéchinocyte, qui sera phagocyté. Ces modifications membranaires entraînent une **baisse de plasticité** de la membrane érythrocytaire. Il a été montré par BENNETT-GUERRERO *et al.* (2007) que la faculté des hématies à se déformer diminuait progressivement au cours du stockage. En fin du stockage, on obtient donc des hématies qui ont perdu toute leur membrane supplémentaire et qui sont devenues des sphères rigides d'environ 5,6 μm de diamètre (CHIN YEE *et al.* (1997)).

c) Modifications enzymatiques

Les leucocytes sont présents dans les échantillons de sang total ou de concentrés globulaires. Ils libèrent des enzymes (protéases, lipases, glycosidases) qui peuvent agir contre leurs cibles présentes sur la face externe de la membrane érythrocytaire. Les protéases sont le plus souvent contrées par des antiprotéases présentes dans le plasma. Les phospholipases peuvent déalkyler des tri alkyl glycérols et produire des lysophospholipides. Ainsi, des facteurs comme le platelet activating factor (PAF) peuvent être produits. Les glycosidases détachent des sucres des glycolipides et glycoprotéines. Ceci entraîne une augmentation de liaison avec les cellules endothéliales.

La filtration des leucocytes permet d'éviter les dommages enzymatiques (HESS (2010), CHIN YEE *et al.* (1997)).

d) Libération d'hémoglobine et hémolyse

Lors du stockage, de l'hémoglobine libre et de l'hémoglobine encapsulée dans les microvésicules sont libérées dans le milieu de stockage. Le taux d'hémolyse dépend du donneur, de la solution de stockage, de sa durée, et de ses conditions (congélation accidentelle, réchauffage trop rapide).

e) Contamination bactérienne

Les hématies et leur milieu de stockage peuvent devenir un milieu de culture pour des bactéries contaminantes. Nombreuses sont les bactéries qui ne résistent pas aux températures de stockage mais certaines bactéries comme *Aeromonas*, *Vibrio*, et *Serratia* peuvent survivre et se multiplier lentement (une multiplication par jour) aux températures utilisées pour le stockage. Ainsi, un stockage d'au moins 19 jours est nécessaire pour atteindre à partir d'une bactérie contaminante une charge de 10^8 bactéries qui peut causer un sepsis.

f) Contamination avec le di-ethylhexyl phtalate (DEHP) ou d'autres plastiques

En 1947, les poches en plastiques commencent à être utilisés pour stocker le sang, appréciées pour leur solidité et leur transparence. Le PVC associé au DEHP devient alors le matériel de choix pour stocker le sang. Le DEHP possède comme avantage de réduire de 75% l'hémolyse des hématies, car en s'intercalant entre les lipides membranaires, il stabilise la membrane et a un effet anti-oxydant. (HESS (2010), CHIN YEE *et al.* (1997))

Récemment, le US National Program a mis en garde contre les possibles effets d'une forte exposition au DEHP sur le développement du tractus génital mâle. Une longue exposition est observée lors d'oxygénation extra-corporelle. Les transfusions occasionnelles ne semblent pas entrer dans la catégorie des fortes expositions mais des alternatives de stockage sont en cours d'élaboration.

4. Etudes *in vitro* et *in vivo* de la viabilité des produits sanguins

Pour comparer les protocoles de prélèvement et de stockage des produits sanguins, il a fallu déterminer des normes de viabilité des hématies. Le National Institutes of Health a déterminé que dans le cadre du stockage de sang humain, un prélèvement est considéré comme viable si 24h après son administration à un patient, au moins 70% des hématies administrées sont encore fonctionnelles. C'est ce qu'on appelle la **Post Transfusional Viability (PTV)**. Pour la Food and Drug Administration, la PTV doit au moins être égale à 75%. WARDROP *et al.* (1998), MARION et SMITH (1983)

Afin de déterminer cette PTV, des études *in vivo* sont menées.

a) Etude *in vivo* de la viabilité des hématies

Afin d'évaluer la PTV, les hématies d'un prélèvement sont marquées radioactivement avec du chrome 51 (Cr 51). Le postulat est qu'à T_0 , au moment du marquage, toutes les cellules ayant intégré le Cr51 sont fonctionnelles. Les cellules marquées sont alors transfusées. La radioactivité d'un prélèvement de sang du receveur effectué 24 heures après la transfusion est mesurée.

Le nombre d'hématies encore vivantes en est déduit.

Ce marquage peut aussi se faire par ajout de biotine. WARDROP *et al.* (1998)

b) Etude biochimique de la viabilité des hématies

Les études *in vivo* sont les seules à déterminer précisément si les hématies transfusées sont encore fonctionnelles. Cependant, ces études sont lourdes et demandent un matériel très spécifique. Des études *in vitro* accompagnent souvent les études *in vivo* et une corrélation entre certains paramètres chimiques et hématologiques et le pourcentage d'hématies viables à 24h post transfusion a été démontrée. (EISENBRANDT (1973 (b)))

Ces paramètres reposent sur le métabolisme des hématies lors du stockage. Ainsi, en mesurant la concentration en glucose, en ATP, en 2,3diPG, le pH et l'hématocrite, l'état de souffrance des hématies peut être évalué.

Le meilleur indicateur *in vitro* serait la concentration en 2.3diPG.

c) Etude morphologique de la sénescence des hématies

Des études morphologiques des hématies peuvent aussi être menées : Au microscope optique, la transformation des érythrocytes en échinocytes puis en sphérocytes peut être observée.

Afin d'étudier la survie des hématies et le bon fonctionnement du métabolisme dans des conditions particulières, différentes études sont donc possibles : biochimiques *in vitro* ou *in vivo* et morphologiques.

TROISIEME PARTIE : MISE EN PLACE DE PROTOCOLES DE PRELEVEMENT ET DE STOCKAGE EN VUE DE CREER UNE BANQUE DE SANG CHEZ LE FURET.

Le stockage du sang de furet n'ayant jamais été étudié et les donneurs étant difficiles à trouver en urgence, nous avons décidé de mettre en place un protocole de prélèvement et de conservation du sang total chez le furet et de l'évaluer *in vitro* par des analyses biochimiques et hématologiques en collaboration avec le service Nouveaux Animaux de Compagnie et Urgences-Soins intensifs du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort.

1. Mise en place des protocoles de prélèvements et de stockage : Matériel et méthode

a) Sélection des animaux à prélever

Le furet donneur idéal est un mâle adulte stérilisé jeune, d'un poids supérieur à 1kg, vacciné, en bon état général et manipulable facilement. Certaines cliniques adoptent un furet qui sert de donneur en cas de transfusion sanguine, d'autres ont une liste de potentiels donneurs établie au préalable grâce à la mise en place d'un formulaire de recrutement dont un exemple est présenté en annexe 1.

Au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort, la décision d'adopter un furet donneur a été prise. Deux furets adultes, correctement vaccinés, abandonnés par leurs propriétaires ont été recueillis par le service Hospitalisation NAC en Octobre 2011 et Mars 2012 en vue de donner leur sang pour en étudier le stockage et en cas de transfusion pendant la durée de notre étude. Il sont maintenus en cage à 2 étages et alimentés avec une alimentation pour furet adulte. A la suite de chaque don, l'alimentation contient en plus des aliments humides hyperprotéinés et une pâte riche en oligo éléments et vitamines. Avant chaque nouveau don, l'hématocrite est mesuré et un frottis réalisé pour vérifier les paramètres hématologiques.

b) Choix du contenant et du conservateur

Chez le furet, le volume à prélever est à calculer selon le poids et représente entre 7 et 20mL. Il n'existe pas de poches de prélèvements de ce volume. De plus, en vue d'un stockage de plusieurs semaines, un système fermé est nécessaire afin d'éviter toute contamination. Nous avons donc décidé d'utiliser des tubes sous vide contenant un anticoagulant. Certains laboratoires fabriquent ce type de tube avec du CPDA, mais ils ont été dans l'impossibilité de nous en fournir une petite quantité.

Ainsi nous avons décidé de fabriquer notre matériel de stockage : De façon stérile, 1mL de CPDA est prélevé dans une poche de prélèvement pour chien neuve contenant du CPDA puis introduit dans des tubes secs en polyéthylènetéréphthalate sous vides de 11mL. 6mL de sang seront ajoutés lors du prélèvement. Les tubes sont ensuite conservés au froid positif, dans un réfrigérateur.

c) Choix du système de prélèvement

Le matériel choisi doit permettre de conserver la stérilité et la vacuité du tube. Un épijet à double aiguille (Push Button blood collection set 23G Becton Dickinson Company, Plymouth, Royaume Uni) est utilisé pour le prélèvement. Un autre épijet simple (Microperfuseur épicranien stérile 25G, Laboratoires Euromedis Neuilly, France) est relié à un robinet 3 voies et au tube sous vide (Z Plus urine tube Becton Dickinson Company, Plymouth, Royaume Uni).

Au besoin, une aspiration avec une seringue stérile permet de refaire le vide, comme montré sur la photographie 2.

Photographie 2 : Montage utilisé pour le prélèvement sanguin



d) Déroulement du prélèvement

L'animal est préalablement mis à jeun pendant deux heures. Le matériel nécessaire au prélèvement détaillé en annexe 2 est préparé.

Le donneur est ensuite placé, non prémédiqué, sous un masque relié à un circuit non recirculant délivrant oxygène et isoflurane (15L d'O₂, 3% d'isoflurane à l'induction puis 15% en entretien). Une fois anesthésié, l'animal est placé en décubitus dorsal, tondu en regard des premières côtes et du sternum comme figuré sur la photographie 3 et la zone de ponction est nettoyée puis désinfectée à l'aide de chlorhexidine solution. La préparation du site de ponction en regard de la veine cave crâniale doit être rapide afin de limiter la séquestration des hématies dans la rate.

Photographie 3 : Zone de tonte pour la ponction sanguine



A l'aide de l'épillet stérile, le premier opérateur franchit la peau en regard de l'espace entre la première côte et le manubrium sternal. Le second opérateur insère alors l'autre aiguille de l'épillet dans le tube contenant le CPDA. Le premier opérateur ponctionne alors la veine cave crâniale. Une fois le tube rempli de 6 mL de sang, l'épillet est retiré du tube puis de l'animal. Comme le vide dans le tube n'est parfois pas suffisant, on relie le tube à un épillet simple grâce auquel avec une seringue de 10mL on rétablit le vide comme illustré par la photographie 4.

Photographie 4 : Prélèvement sanguin dans la veine cave crâniale à l'aide d'un épillet et d'un tube sous vide



Après le prélèvement, on met en place un cathéter céphalique au donneur : On administre à l'animal une solution de NaCl 0,9% tiédi à un rythme de 4mL/kg/h pendant trois heures. Le volume administré doit être égal à 4 fois le volume de sang prélevé. Si la perfusion ne peut être faite en continue, on injecte des bolus de 4mL/kg de NaCl toutes les heures. Si aucun cathéter IV ne peut être placé, on peut réhydrater à l'aide d'un cathéter intra-osseux ou en sous-cutané.

L'animal est surveillé pendant toute la phase de réveil. Il est placé en cage, sur bouillotte.

Une fois bien réveillé, on lui laisse à disposition de l'eau et une alimentation hyperprotéinée type a:d (Hill's) ou recovery (Royal Canin).

Le tube est identifié : nom de l'animal, date du prélèvement.

e) Mode de stockage

Le tube est stocké au froid positif (+4°C) dès la fin du prélèvement. Il est agité manuellement régulièrement.

2. Evaluation de la viabilité des hématies

a) Choix des paramètres évalués

Différents laboratoires ayant mené des études *in vivo* sur la viabilité des hématies ont été contactés mais n'ont pas été en mesure de nous accueillir pour nos analyses. Le choix des paramètres évalués a donc été motivé par la disponibilité au CHUVA et le coût des analyses effectuées.

Ainsi, notre étude comporte un suivi de la **glycémie, du pH et de la lactatémie** du prélèvement, témoins du métabolisme des hématies. Un ionogramme est également réalisé chaque semaine en vue d'évaluer la **kaliémie** et la **natrémie** du milieu. Afin de suivre la morphologie des hématies et leur nombre, un **hématocrite** et un **frottis** sont réalisés.

b) Méthode d'évaluation

Une étude biochimique et morphologique du prélèvement est réalisée une fois par semaine à partir du jour du prélèvement jusqu'au 28ème jour. Pour chaque jour d'analyse, 1 mL de sang est prélevé avec une seringue de 1mL munie d'une aiguille bleue par ponction à travers le bouchon perforable.

La glycémie et la lactatémie sont mesurés à l'aide d'un glucomètre et d'un lactatomètre.

L'hématocrite est mesuré à l'aide de microtubes à hématocrite et d'une centrifugeuse.

Un ionogramme est établi à l'aide de l'automate Idexx Vetstat.

Enfin un frottis est réalisé comme décrit dans la partie 1, coloré au MGG et observé immédiatement au microscope optique. Des photos au grossissement 100 sous huile à immersion sont prises à chaque analyse.

Un test de Student bilatéral ou apparié est utilisé pour analyser statistiquement les données. Le logiciel XL STAT 2012 a été employé pour les calculs.

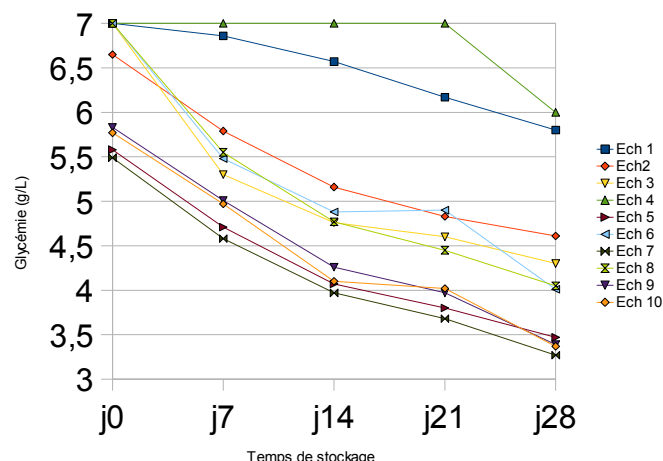
c) Résultats

i. Etude biochimique

Les figures 2 à 6 présentent l'évolution du pH et des taux de potassium, sodium, glucose et lactate des 10 échantillons stockés lors de notre étude en fonction du temps. En annexe 5 sont présentés les tableaux regroupant les résultats de stockage et le détail de l'étude statistique pour chaque paramètre étudié.

Evolution de la glycémie

Figure 2 : Evolution de la glycémie au cours du stockage

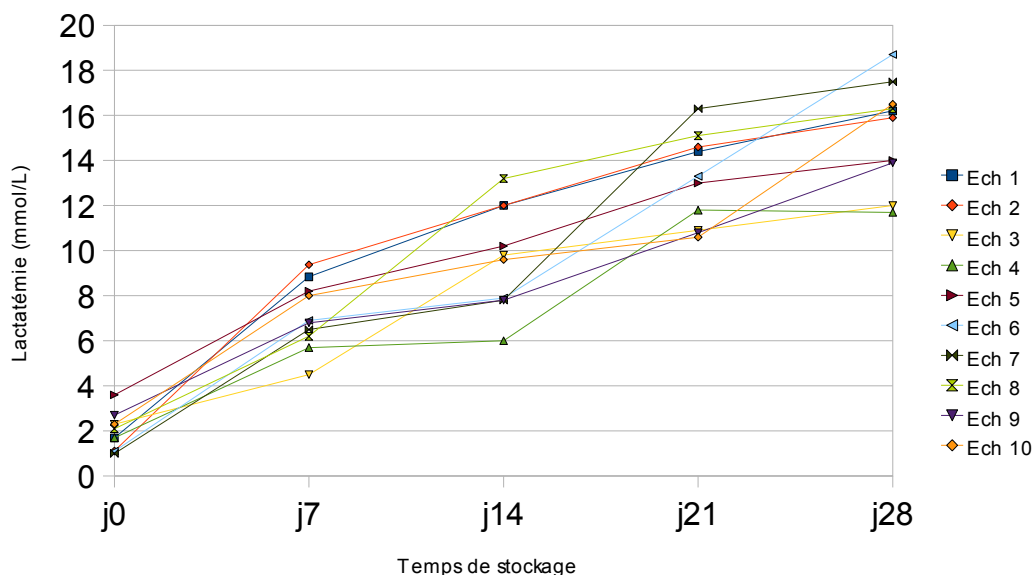


On observe que les taux de glucose des échantillons sont à j0 très élevés (avec une moyenne de 6,43 +/- 0,673 g/L). Ceci est dû à la présence de dextrose dans le conservateur. Au cours du stockage, le taux de glucose diminue très nettement. A j7, la moyenne est de 5,52 +/- 0,831g/L, à j14 de 4,95 +/- 1,048 g/L, à j21 de 4,74 +/-1,075 g/L et à j28 de 4,23 +/-0,987 g/L. Chacune des moyennes à J7, J14, J21 et J28 est significativement différente de J0 (avec $p_7=0,001$, $p_{14}<0,0001$, $p_{21}<0,0001$ et $p_{28}<0,0001$ avec p_i la valeur de p pour le test de student apparié entre J0 et Ji.)

Dès 7 jours de stockage, la glycémie varie donc de façon significative.

Evolution de la lactatémie

Figure 3 : Evolution de la lactatémie au cours du stockage

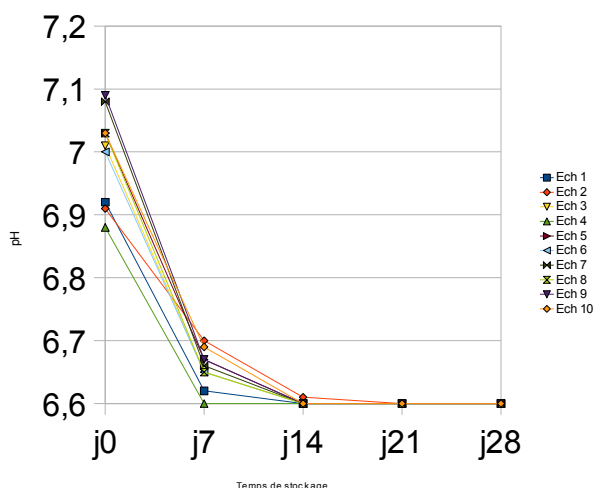


Le taux de lactate augmente très rapidement dans tous les échantillons. La moyenne à j0 est de 1,96 +/- 0,817mmol/L, elle atteint 7,102 +/- 1,501mmol/L à j7, 9,630 +/-2,29mmol/L à j14, 13,080 +/-2,008 mmol/L à j21 et 15,27+/- 2,297mmol/L à j28. Chacune des moyennes à J7, J14, J21 et J28 est significativement différente de J0 avec p_7 , p_{14} , p_{21} et $p_{28}<0,0001$.

Le test de Student apparié appliqué à ces résultats montre donc que dès 7 jours de stockage, la lactatémie varie de façon significative.

Evolution du pH

Figure 4 : Evolution du pH au cours du stockage

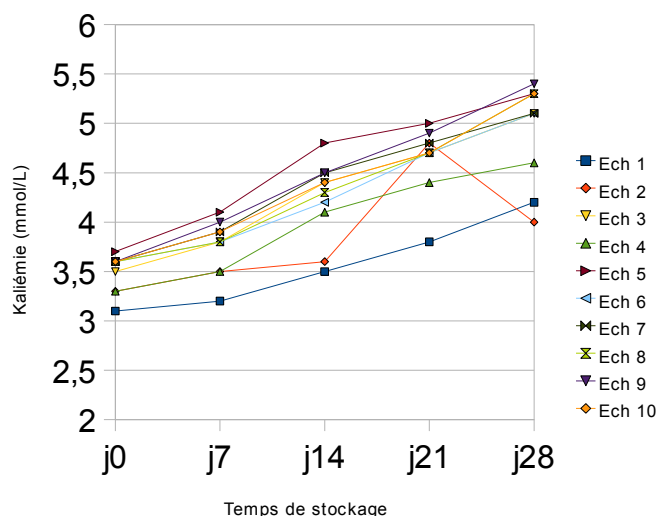


Le pH de l'échantillon diminue très rapidement. Dès 14 jours de stockage, sa valeur devient inférieure à 6,6, valeur minimale mesurable par l'automate utilisé. La moyenne à j0 est de 6,998 $\pm$ 0,072 et de 6,656 $\pm$ 0,030 à j7. Chacune des moyennes à J7 et J14 est significativement différente de J0 avec p_7 et $p_{14} < 0,0001$.

Le test de Student apparié appliqué à ces résultats montre donc que dès 7 jours de stockage, le pH varie de façon significative.

Evolution de la kaliémie

Figure 5 : Evolution de la kaliémie au cours du stockage

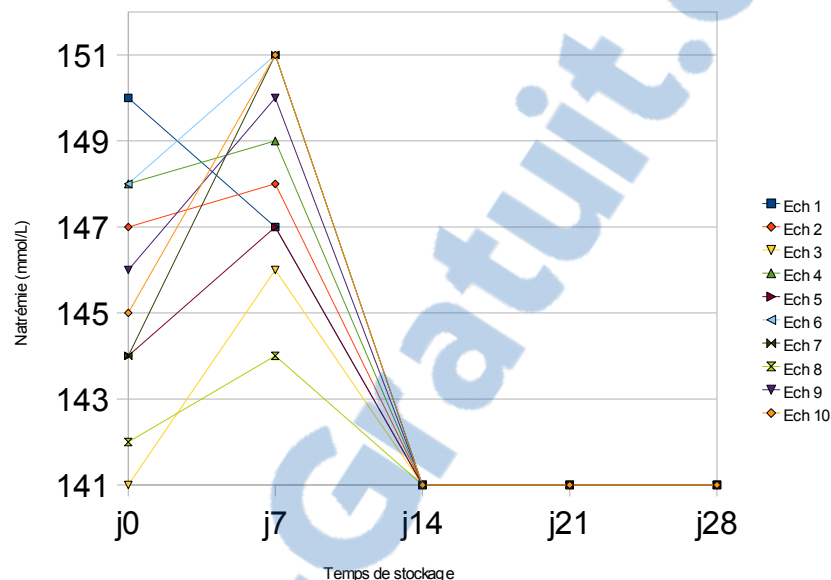


Le taux de potassium augmente progressivement au cours du temps de stockage. La moyenne des résultats à j0 est de 3,49 $\pm$ 0,191 mmol/L, 3,75 $\pm$ 0,272 mmol/L à j7, 4,23 $\pm$ 0,406 mmol/L à j14,

4,65 +/-0,337 mmol/L à j21 et 4,94 +/- 0,497 à j28. Chacune des moyennes à J7, J14, J21 et J28 est significativement différente de J0 avec p_7, p_{14}, p_{21} et $p_{28} < 0,0001$. Le test de Student apparié appliqué à ces résultats montre donc que dès 7 jours de stockage, la kaliémie varie de façon significative.

Evolution de la natrémie

Figure 6 : Evolution de la natrémie au cours du stockage



A j0, la moyenne de la natrémie est de 145,15 +/- 2,838 mmol/L. Elle augmente à 148,4 +/- 2,413 mmol/L à j7 puis rediminue à 141,1 +/- 0,316 mmol/L à j14. Elle devient ensuite non mesurable. Chacune des moyennes à J7 et J14 est significativement différente de J0 avec $p_7 = 0,011$ et $p_{14} = 0,001$. Le test de Student apparié appliqué à ces résultats montre que dès 7 jours de stockage, la natrémie varie de façon significative.

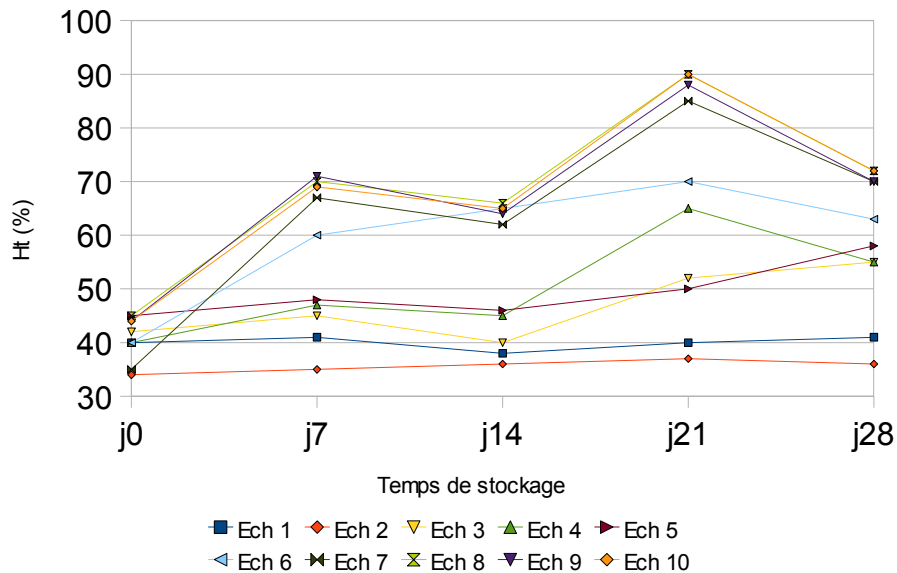
L'ensemble de ces résultats est un témoin du métabolisme des hématies stockées. Les hématies consomment du glucose (contenu dans le CPDA) et produisent par la voie de la glycolyse du lactate et des protons qui entraînent une chute du pH. Le taux de potassium dans le milieu extra cellulaire augmente à cause de la forte perméabilité de la membrane aux ions potassium.

ii. Etude hématologique

La figure 7 montre l'évolution de l'hématocrite au cours du temps de stockage. Les photographies 5 à 10 permettent de visualiser les modifications morphologiques des hématies lors du stockage, observées au microscope optique à un grossissement 100. En annexe 5 est présentée l'étude statistique de ces résultats.

Evolution de l'hématocrite

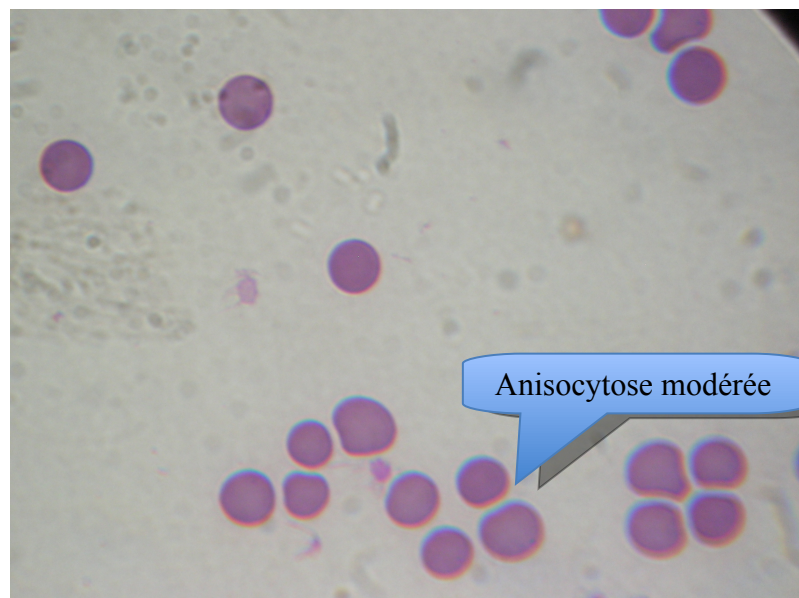
Figure 7 : Evolution de l'hématocrite au cours du stockage



On remarque que l'hématocrite augmente globalement avec une moyenne à j0 de 40,9 +/- 3,929%, de 55,3 +/- 13,557% à J7, 52,7 +/- 12,711% à J14, 66,7 +/- 21,024% à J21 et 59,2 +/- 12,831% à J28. Chacune des moyennes à J7, J14, J21 et J28 est significativement différente de J0 avec $p_7=0,005$, $p_7=0,012$, $p_{14}=0,003$ et $p_{28}=0,001$. Le test de Student apparié appliqué aux moyennes des hématocrites mesurés montre donc que dès 7 jours de stockage, l'hématocrite varie de façon significative. L'augmentation de l'hématocrite peut être expliquée par les modifications morphologiques que subissent les hématies, prenant davantage de place du fait de leur transformation en échinocytes.

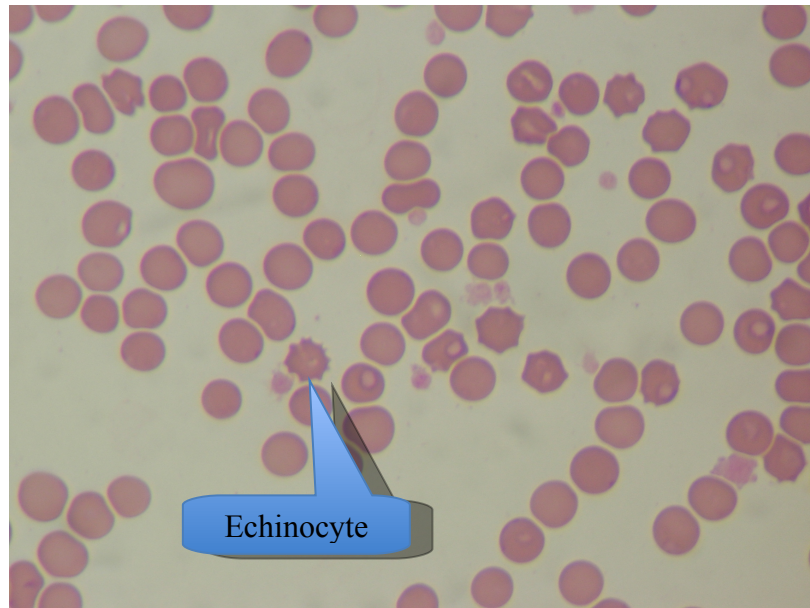
A l'observation des frottis sanguins réalisés à j0, j7, j14, j21, et j28, les modifications suivantes sont observées :

Photographie 5 : Frottis à j0 grossissement 100



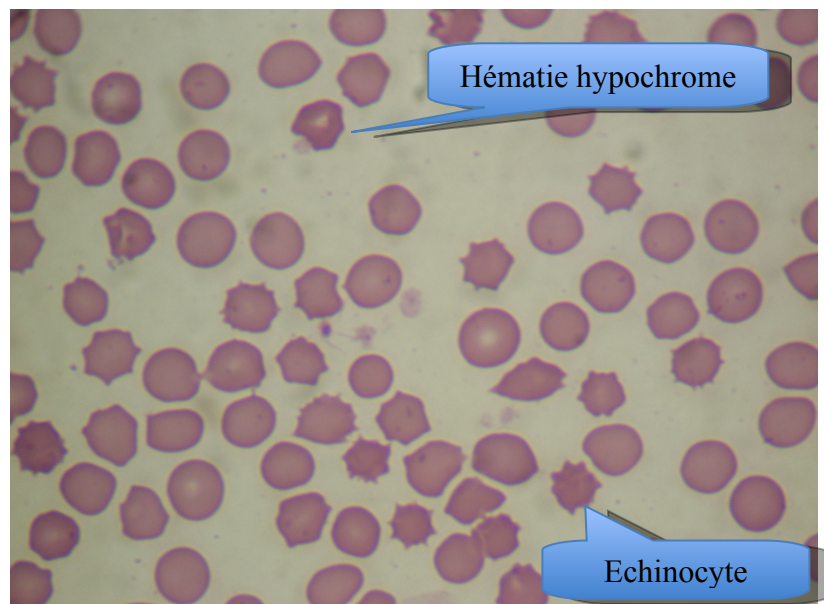
On observe une anisocytose modérée.

Photographie 6 : Frottis à j7 grossissement 100



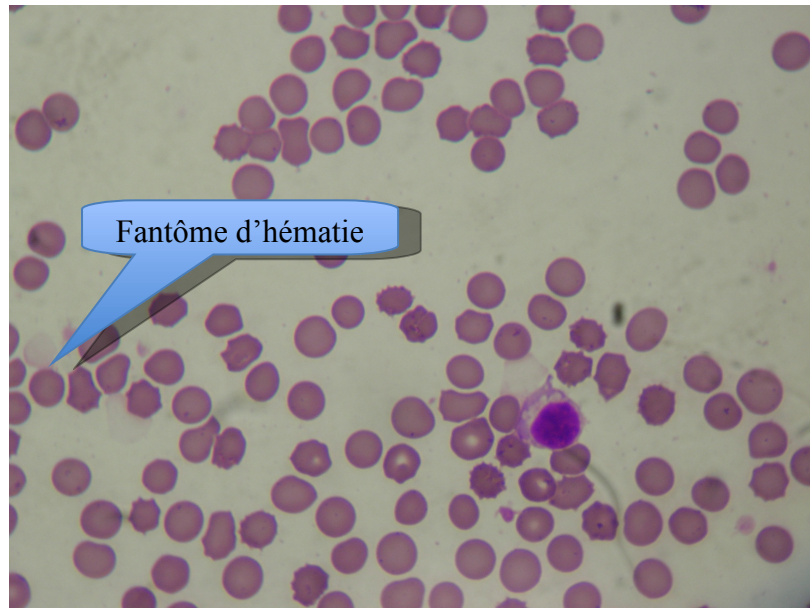
L'anisocytose est toujours visible. Quelques échinocytes sont présents.

Photographie 7 : Frottis à j14 grossissement 100



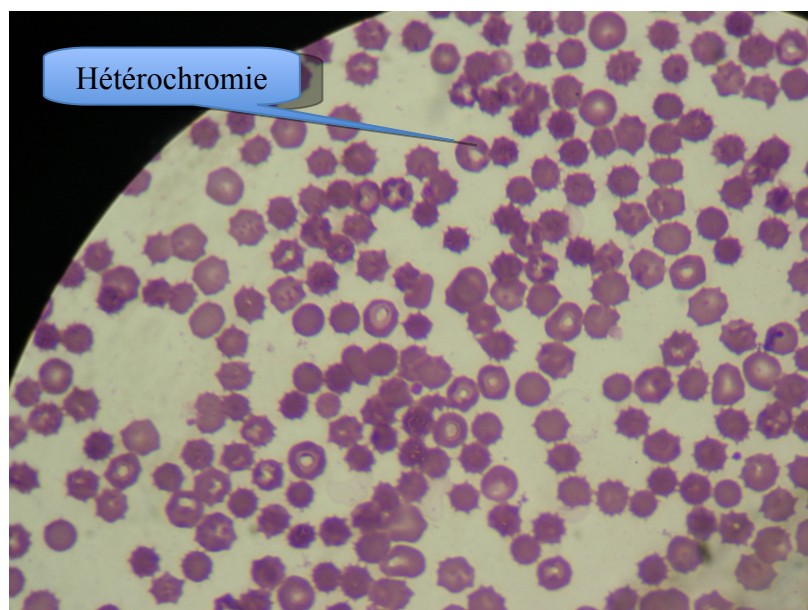
Les échinocytes sont plus nombreux. Certaines hématies sont hypochromes.

Photographie 8 : Frottis à j21 grossissement 100



Après centrifugation, le sérum est hémolysé. Le nombre d'échinocytes augmente. Quelques fantômes d'hématies sont visibles.

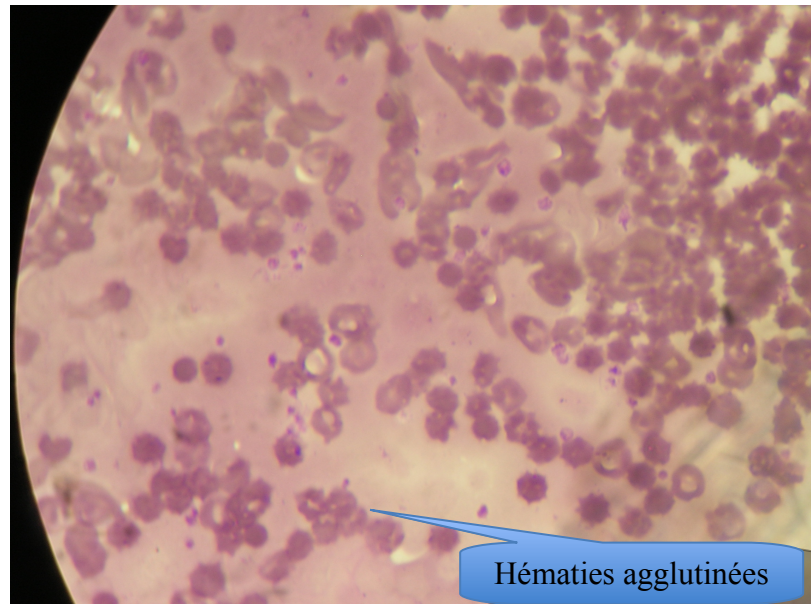
Photographie 9 : Frottis à j28 grossissement 50



Des caillots sont visibles dans le tube de stockage. Après centrifugation, le sérum est hémolysé. De très nombreux échinocytes sont visibles. Certains échinocytes ont une grosse vacuole claire au centre, qui repousse l'hémoglobine en périphérie : On note une hétérochromie marquée.

A d'autres endroits de la lame, les hématies sont agglutinées et baignent dans du sérum hémolysé.

Photographie 10 : Frottis à j28 grossissement 100



Des modifications de la morphologie des hématies pendant le stockage apparaissent rapidement. L'apparition d'échinocytes, l'hypochromie et la vacuolisation progressive des hématies montrent la perte de plasticité et de fonction de ces dernières. Les mêmes observations sont notées sur l'ensemble des frottis.

d) Discussion

i. Nos études sont-elles statistiquement reproductibles ?

Dix prélèvements ont servi à notre étude sur le stockage. Un test de Student apparié a été utilisé afin de vérifier si les différences observées étaient significatives. Ce test peut être employé pour des études comportant moins de 30 échantillons (ici $n=10$). On choisit un test apparié car les mesures ne sont pas indépendantes, le même échantillon servant pour les mesures aux différents temps de stockage. Les tests de Student appariés appliqués aux différentes variables montrent que les différences observées sont toutes significatives et ce dès 7 jours de stockage.

ii. Est-il possible de transfuser du sang stocké selon notre protocole ?

Les résultats biochimiques et hématologiques témoignent des modifications rapides subies par les hématies. L'analyse statistique montre que dès 7 jours de stockage toutes les variables étudiées sont statistiquement différentes par rapport à j0.

A partir de 21 jours de stockage toute transfusion du produit est exclue du simple fait de l'hémolyse des érythrocytes. A 14 jours de stockage, des échinocytes sont présents en nombre déjà conséquent et certains perdent déjà une partie de leur hémoglobine (hypochromie). Pour une partie d'entre eux, les lésions sont donc déjà irréversibles. Par ailleurs, le taux très élevé de lactate dès 7 jours de stockage et le pH très bas de l'échantillon appellent à la prudence quand à l'utilisation potentielle de

ces échantillons sur des receveurs déjà fragilisés, même si les modifications des hématies peuvent être réversibles.

Seules des études *in vivo* pourraient indiquer exactement la viabilité post transfusionnelle de nos échantillons et le nombre de jour de stockage possible. Au vu des résultats *in vitro* obtenus, il semble tout de même que les modifications subies par l'échantillon soient très précoces. L'utilisation de sang stocké selon notre protocole doit donc se faire avec une grande prudence et après un stockage court (7 jours maximum)

iii. Quelles modifications apporter à notre protocole en vue d'augmenter la longévité des hématies ?

Lors des prélèvements, le sang était prélevé dans un tube sous vide contenant du CPDA. Le vide contenu dans les tubes était ajusté afin de permettre la ponction sanguine sans collaber la veine cave crâniale. Certaines études ont montré que des chocs trop importants sur les hématies les fragilisaient. Le stockage en bouteille en verre avait ainsi été abandonné au profit des poches souples. Le vide de nos tubes a peut être soumis les hématies à des pressions négatives trop importantes et fragilisé leur membrane. L'utilisation de poches souples de faibles volumes permettrait sans doute d'améliorer la longévité des hématies.

Une étude sur un plus grand nombre de furets incluant une étude *in vivo* serait intéressante afin d'établir des conditions de stockage optimales pour le sang de furet.

QUATRIEME PARTIE : UN CAS CLINIQUE D' ANEMIE PAR PERTE SANGUINE TRANSFUSE AU CHUVA

1. Anamnèse et milieu de vie

Gribouille est un furet mâle non castré de 7 mois, adopté à l'âge de 3 mois. Il vit avec un autre furet, 9 chiens et 8 chats. C'est un furet de chasse.

Il vit dans un abri à l'extérieur composé de 2 cages de 1m x 1m et d'un parc de 4m x 2m. La cage est nettoyée tous les jours et désinfectée une fois par semaine.

Les vaccinations contre la maladie de Carré et la Rage sont à jour.

2. Commémoratifs

Un mois auparavant Gribouille a été mordu lors d'une fugue au niveau de la commissure des lèvres. A son retour, il a été hospitalisé une semaine chez son vétérinaire traitant pour traitement d'une hyperthermie persistante, détresse respiratoire et jetage séreux, dysorexie et diarrhée hémorragique : Il a reçu un traitement à base d'acide tolfénamique, d'amoxicilline-acide clavulanique, de marbofloxacin et dexaméthasone, sans résultats. Les doses reçues ne sont pas connues.

Gribouille a été vu en consultation d'urgence au CHUVA pour hyperthermie persistante, détresse respiratoire, dysorexie et diarrhée hémorragique. Une anémie modérée est mise en évidence (Ht : 28%, HB : 10,4g/100mL). Les protéines totales sont à 58g/L. Un abcès en région cervicale a été mis en évidence autour de la puce électronique. Un parage chirurgical et un traitement à base de buprénorphine (Vétergésic®) à 0,03mg/kg trois fois par jour en sous cutané, amoxicilline-acide clavulanique (Augmentin®) à 20mg/kg deux fois par jour en intra veineux, méloxicam (Métacam®) à 0,2 mg/kg une fois par jour per os et fluidothérapie NaCl 0,9% 100mL/kg/j sont mis en place.

3. Examens complémentaires

Quelques jours après l'intervention, l'animal est abattu mais normotherme. Les bruits respiratoires semblent légèrement augmentés. Les muqueuses sont pâles. L'animal présente du méléna.

Une analyse sanguine révèle une anémie majeure (Ht : 15%). On note une forte chute des protéines totales (44g/L) et des plaquettes et un taux de bilirubine très inférieur aux valeurs seuils. Les muqueuses sont pâles et non ictériques. L'anémie vient donc d'une hémorragie ou d'une spoliation. Le lieu de l'hémorragie est exploré par les examens complémentaires suivants :

- Echographie abdominale : aucune anomalie détectée
- Gastroskopie : présence d'ulcérations gastriques et reflux biliaires importants entraînant une forte suspicion d'ulcérations duodénales.

4. Diagnostic

Gribouille présente des ulcères gastriques de petites tailles et une forte suspicion d'ulcères duodénaux est posée.

5. Traitement

a) Pour l'anémie

Une transfusion sanguine (15mL d'un mélange CPDA/Sang frais (ratio 1/6) prélevé sur le furet donneur du CHUVA selon la technique décrite dans la partie 3, à un rythme de 7mL/h en IV) est mise en œuvre. Les fréquences respiratoires et cardiaques et la température du receveur sont surveillées étroitement. Le mélange transfusé a été analysé. Les résultats sont joints en annexes. Un traitement oral de fercobsang à 0,1mL est également mis en place.

b) Pour les ulcères digestifs

Le traitement suivant est instauré pour lutter contre les ulcères digestifs :
Amoxicilline- acide clavulanique (Augmentin®) 20mg/kg IV deux fois par jour
Métronidazole (Flagyl®) 20mg/kg deux fois par jour per os
Ranitidine (Azantac®) 0,2mg/kg une fois par jour intra veineux
Sucralfate (Ulcars®) 2mL trois fois par jour per os

6. Evolution

Les figures 8 et 9 montrent l'évolution de l'hématocrite et des protéines totales après le traitement :

Figure 8 : Evolution de l'hématocrite

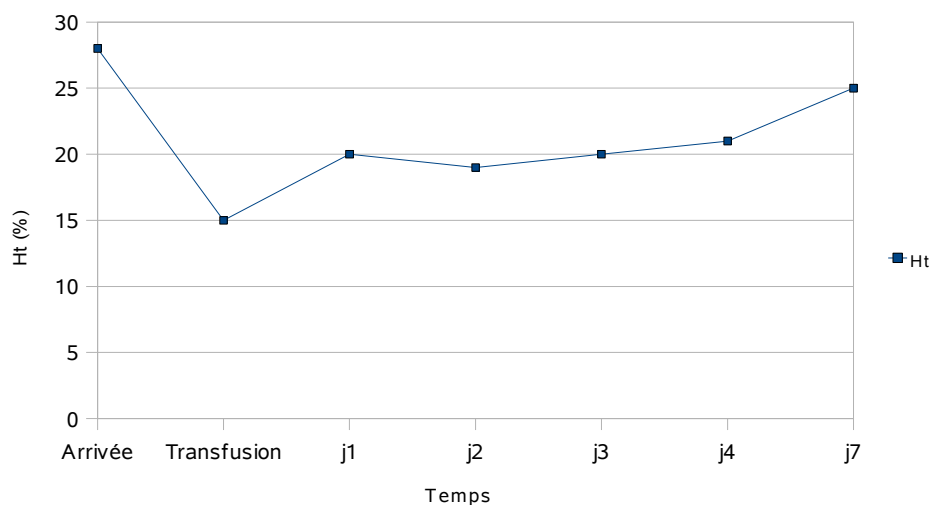
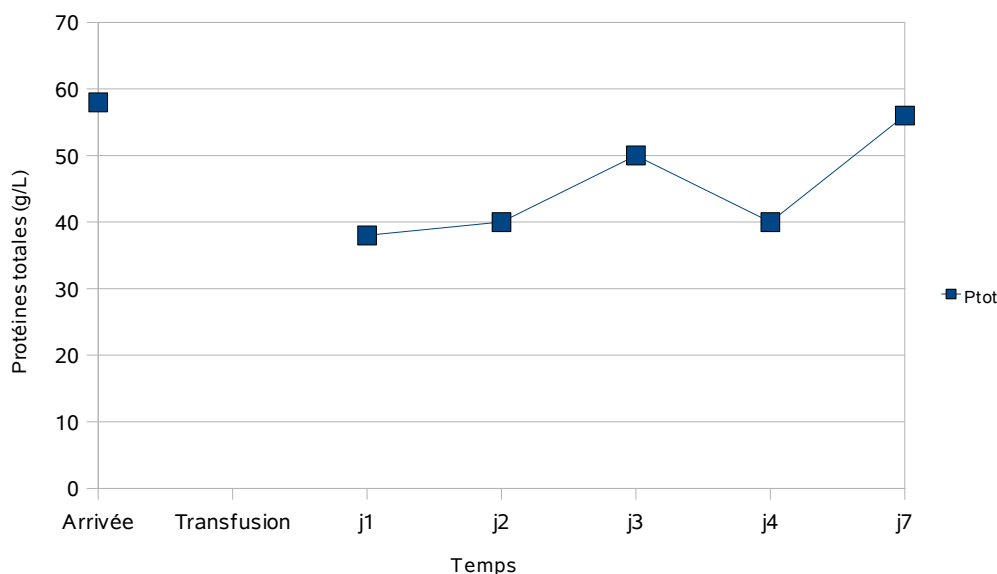


Figure 9 : Evolution des protéines totales



L'hématocrite et les protéines totales augmentent progressivement après la transfusion. Une légère baisse a lieu pour les deux paramètres à j2 après l'anesthésie de la gastroscopie. Ceci s'explique par la séquestration des hématies dans la rate sous isoflurane.

La quantité de bilirubine a été mesurée à j-1, j1 et j7. Elle est à chaque fois non détectable. Il ne semble donc pas y avoir de destruction massive d'hématies suite à la transfusion.

Après la transfusion, le furet est encore faible. Progressivement, son état général s'améliore. Au bout de 6 jours, il s'alimente spontanément. Les selles sont normales. Il se déplace seul. Il sort d'hospitalisation 8 jours après la transfusion.

7. Discussion

Ce cas illustre l'intérêt de la transfusion sanguine chez le furet : le renouvellement des hématies étant long comme dans toutes les espèces, l'apport massif d'hématies par la transfusion sanguine permet de rétablir plus rapidement une fonction d'oxygénation acceptable pour l'organisme, et ce sans risque de complications. Ici, la transfusion a permis un gain de 5 points d'hématocrite en quelques heures.

Cet exemple montre également que les conditions du prélèvement (tube de verre et épijet) ont été suffisantes pour permettre une survie des hématies sans stockage. On ne connaît cependant pas l'impact de la technique de prélèvement sur le stockage.

Chez cet animal, la transfusion a pu être réalisée rapidement du fait de la présence d'un donneur dans le service hospitalisation NAC. C'est encore plus important lorsque les anémies sont brutales par exemple lors d'hémorragies actives. Disposer de sang stocké permettrait d'intervenir dans des délais brefs sans avoir à entretenir dans chaque centre un furet donneur.

Au vu de nos résultats de stockage, il serait bénéfique d'essayer d'autres protocoles de prélèvements et de stockage afin de pouvoir conserver le sang de furet pendant plusieurs semaines. Pour le moment, l'entretien d'un furet donneur dans les services spécialisés pour les nouveaux animaux de compagnie reste une bonne solution.

CONCLUSION

Cette synthèse sur la transfusion sanguine chez le furet permet tout d'abord de faire un point sur les connaissances et les pratiques existantes. L'anémie est une pathologie relativement courante dans cette espèce. L'absence de groupes sanguins et la rareté des réactions transfusionnelles pourraient faire de la transfusion sanguine un acte courant en routine. Pourtant les cliniques la pratiquant sont encore rares du fait de l'utilisation exclusive du sang frais total, ce qui implique souvent de trouver un donneur en urgence. En effet, aucune étude à propos du stockage du sang de furet n'a jusqu'à ce jour été publiée.

Notre travail a porté sur l'étude d'un protocole de prélèvement et de stockage de sang de furet, prélevé dans la veine cave crâniale à l'aide d'un épijet et d'un système collecteur sous vide contenant 1mL de CPDA pour 6mL de sang. Des études biochimiques et hématologiques ont été menées une fois par semaine durant 4 semaines. Elles ont montré de rapides modifications morphologiques des hématies dès 1 semaine de stockage et irréversibles au bout de 2 semaines de stockage.

Le faible nombre d'échantillons disponibles est une limite à l'interprétation de notre travail. Une étude sur un plus grand nombre d'échantillons mettant en jeu d'autres systèmes de prélèvements et de stockage et une évaluation in vivo de l'évolution des hématies seraient à envisager pour constituer un protocole de référence pour le stockage du sang de furet et créer une banque de sang.



BIBLIOGRAPHIE

- BERNARD SL, LEATHERS CW, BROBST DF, GORHAM JR. Estrogen-induced bone marrow depression in ferrets. *Am. J. Vet. Res*, 1983, **44**, 657-661
- BENNETT-GUERRERO *et al.* Evolution of adverse changes in stored RBCs. *PNAS*, 2007, **104**, 17063-17068.
- BOUSSARIE D. Guide pratique de médecine du furet. *Editions Med'com.* , 2008, 287 pages.
- BUNN H. Differences in interaction of 2,3DiPG with certain Mammalian Hemoglobins. *Science*, 1971, **172**, 1049-1050
- CHIN-YEE I., ARYA N., D'ALMEIDA MS. The red celle storage lesion and its implication for transfusion. *Transfus. Sci.*, 1997, **18**, 447-458
- COWEL RL, TYLER RD, NEINKOTH. Diagnostic cytology and Hematology of the dog and cat. 1999, Editions Mosby.
- DUTTON MA. Transfusions in ferrets. *Exotic Pet practice*, 1999, **4(5)**, 33-34.
- DYER SM, CERVASIO EL. An Overview of restraint and blood ollection techniques in exotic pet practice. *Vet Clin Exot Anim*, 2008, **11**, 423-443
- EISENBRANDT DL, SMITH JE. (a) Evaluation of preservatives and containers for storage of canine blood.. *J. Am. Vet. Med. Animal*, 1973, **163**, 988-990
- EISENBRANDT DL, SMITH JE. (b) Use of biochemical measures to estimate viability of red blood cells in canine blood stored in acid citrate dextrose solution, with and without added ascorbic acid. *J. Am. Vet. Med. Animal*, 1973, **163**, 984-987
- FLATMAN PW. Sodium and potassium transport in ferret red cells. *J. Physiol.*, 1983, **341**, 545-557
- FOX JG, HEWES K, NIEMI SM. Retro orbital technique for blood collection from the ferret. *Lab Anim Sci*, 1984, **34**, 198-9
- FOX JG, ANDERSON L, LOEW F *et al.* Biology and diseases of the ferret. Laboratory animal medicine. 2nd ed., 2002, Academic press, 900p.
- FOX JG, ZEMAN DH, MORTIMER JD. Copper toxicity in sibling ferrets. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1994, **205**, 1154.
- GABRIO BW, FIN CH CA. The relation of the storage lesion to in vivo erythrocyte senescence. *J Clin Invest.*, 1954, **33**, 242-6
- GABRIO BW, FINCH CA, HUENNEKENS FM. Erythrocyte preservation : a topic in molecular biochemistry. *Blood. The journal of hematology*. 1956, **11**, 103-113
- HESS JR. Red cell changes during storage. *Transfusion and apheresis Science*. 2010, **43**, 51-59

- HILLYER EV. Blood collection and transfusion in ferrets. *In*: KIRK RW, BONAGURA JD. Kirk's Current Veterinary Therapy. Diseases of birds and exotic pets. ed. Philadelphia, WB Saunders, 1995, 1305-1322
- HOEFER HL. Transfusions in exotic species. *Probl. Vet. Med.*, 1992, **4**, 625-635
- KOCIBA GJ, CAPUTO CA. Aplastic anemia associated with estrus in pet ferrets. *J. Am. Vet. Med. Animal*, 1981, **178**, 1293-1294
- KRIEBARDIS *et al.* Storage dependent remodeling of the red blood cell membrane is associated with increased immunoglobulin G binding, lipid rearrangement, and caspase activation. *Transfusion*, 2007, **47**, 1212-1220
- KRISTENSEN AT, FELDMAN BF. Blood banking and transfusion medicine. *In*: ETTINGER SJ, FELDMAN BF. Textbook of Veterinary Internal Medicine. Blood banking and transfusion medicine. ed. Philadelphia, WB Saunders, 1995, 347-360
- KRISTENSEN AT, FELDMAN BF. Modern veterinary blood banking practices and their applications in companion animal practice. *Vet. Clin. North. Am.: Small Animal Practice*, 1995, **25**, 1231-1243
- LAWSON AK, LICHTENBERGER M, DAY T, KO J, KIRBY R. Comparison of Sevoflurane and Isoflurane in Domestic Ferrets (*Mustela putorius furo*). *Vet. Ther.*, 2006, **7**, 207-212.
- LEE EJ, MOORE WE, FRYER HC, MINOCHA HC. Haematological and serum chemistry profiles of ferrets (*Mustela putorius furo*). *Lab Anim*, 1982, **16**, 133-137.
- LEFEVRE C, Hématopathologie et pathologie des organes hématolymphopoiétiques chez le furet (*Mustela putorius furo*). Etude bibliographique. Thèse soutenue à l'ENVA en 2010
- LEWINGTON JF. Ferret husbandry medicine and surgery. 2nd ed., WB Saunders, 2008, 460-461
- LICHTENBERGER M. Transfusion Medicine in exotic pets. *Clinical Techniques in small animal practice.*, 2004, **19**, 88-95
- LION N., CRETTEZ D., RUBIN O., TISSOT JD. Stored red blood cells : A changing universe waiting for its maps. *Journal of proteomics*, 2010, **73**, 374-385.
- MALKA S, HAWKINS MG, ZABOLOTZKY SM, MITCHELL EB, OWENS SD. Immune-mediated pure red cell aplasia in a domestic ferret. *J. Am. Vet. Med. Animal*, 2010, **237**, 695-700
- MANNING DD, BELL JA. Lack of detectable blood groups in domestic ferrets : Implications for transfusion. *J. Am. Vet. Med. Animal*, 1990, **197**, 84-86
- MARINI P *et al.* Distribution of technetium 99m-labeled red blood cells during isoflurane anesthesia in ferrets. *Am. J. Vet. Res*, 1997, **58**, 781-785
- MARINI P *et al.* The effect of isoflurane on hematologic variables in ferrets. *Am. J. Vet. Res*, 1994, **55**, 1479-1483
- MARION RS, SMITH JE. Posttransfusion viability of feline erythrocytes stored in acid-citrate-dextrose solution. *J. Am. Vet. Med. Animal*, 1983, **183**, 1459-1460

- MITROFAN-OPREA L. *et al.* Nouveaux critères d'évaluation de la viabilité des hématies destinées à la transfusion. *Transfusion clinique et biologique*, 2007, **14**, 393-401.
- MORISEY JK. Blood transfusions in exotic species. In: FELDMAN FB, ZINKL JG, SCHALM OW, JAIN NC. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Wiley-Blackwell, 2000, 857-858
- PODLOSKY L, POIRIER A, NAHIRNIAK S, CLARKE G, ACKER JP. Viability of AS-3 and SAG-m red cells stored in plastic syringes for pediatric transfusion. *Transfusion*, 2008, **48**, 1300-1307
- QUESENBERRY KE, CARPENTER JW. Ferrets, rabbits, and rodents. Clinical Medicine and surgery. 2nd ed. WB Saunders, 1997, 460p.
- QUINTON JF. Atlas des nouveaux animaux de compagnie. Petits mammifères. 2009. Masson, 307-313.
- RYLAND LM. Remission of estrus-associated anemia following ovariohysterectomy and multiple blood transfusions in a ferret. *J. Am. Vet. Med. Animal*, 1982, **181**, 820-822
- SAISON R. The blood groups of mink. Six blood group factors and a blood group system in mink. *J. Immunol*, 1962, **89**, 881-85
- SIPERSTEIN LJ. Ferret hematology and related disorders. *Vet. Clin. Exot. Anim.*, 2008, **11**, 535-550
- THORNTON PC, WRIGHT PA, SACRA PJ, GOODIER TE. The ferret, *Mustela putorius furo*, as a new species in toxicology. *Laboratory animals*, 1979, **13**, 119-124
- WARDROP KJ, TUCKER LR, ANDERSON EP. Use of an in vitro biotinylation technique for determination of posttransfusion viability of stored canine packed red blood cells. *Am. J. Vet. Res*, 1998, **59**, 397-400
- WARDROP KJ, TUCKER LR, MUGNAI K. Evaluation of canine red blood cells stored in a saline, adenine, an glucose solution for 35 days. *J. Vet. Int. Med*, 1997, **11**, 5-8
- WARDROP KJ. Selection of anticoagulant-preservatives for canine and feline blood storage. *Vet. Clin. North. Am.: Small Animal Practice*, 1995, **25**, 1263-1276

ANNEXE 1 : Formulaire de recrutement de furet donneur de sang

COORDONNEES DU PROPRIETAIRE

Nom et prénom

Adresse

N° de téléphone

IDENTITE DE L'ANIMAL

Nom

N° d'identification

Sexe

Stérilisation et âge à la stérilisation :

Date de naissance

STATUT MEDICAL DE L'ANIMAL

Antécédents pathologiques connus

Statut vaccinal (valence et date) Rage

Maladie de Carré

Anti parasitaire (molécule et date de la dernière administration) :

Dons déjà effectués : nombre de dons et date du dernier don :

-----A REMPLIR PAR LE CLINICIEN-----

EXAMEN CLINIQUE PRE-DON

muq. TRC : FC : FR : T°C : P :

Palpation abdominale :

Auscultation cardio respiratoire :

Autres éléments anormaux dans l'examen clinique :

Heure du dernier repas :

EXAMEN COMPLEMENTAIRE

Ht : TP :

ANNEXE 2 : Liste du matériel à préparer lors des prélèvements

Anesthésie

Masque

Machine à vérifier

Prélèvements

Tondeuse

Compresses

Chlorhexidine

Epijets double aiguille

Tubes avec CPDA

Seringue pour refaire le vide + epijet simple + bouchon perforable.

Pose de cathéter

Cathéters violets

Aiguille pour scarifier la peau

Scotch

Bouchon perforable

Sérum physiologique

Seringue et aiguille avec sérum physiologique

Surveillance post prélèvements

Bouillotte Snuggle safe ou cage avec tapis chauffant

Thermomètre

Stéthoscope

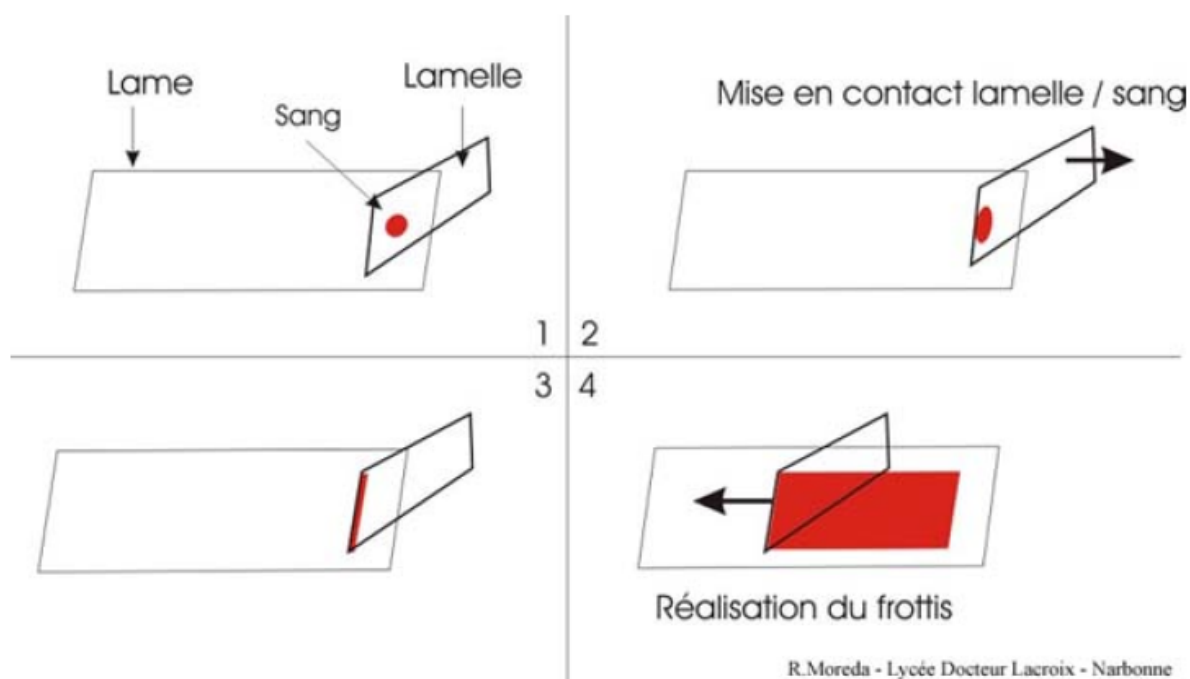
Pousse seringue

Seringue de 60mL remplie de liquide physiologique

Prolongateur

ANNEXE 3 : Réalisation d'un frottis sanguin

Une goutte de sang est déposée à l'extrémité d'une lame rodée dite support. Une seconde lame rodée



est amenée vers la goutte de sang avec un angle d'environ 45° . Une fois le sang réparti le long de cette lame, elle est glissée vers l'autre extrémité de la lame support. Le frottis est réussi si on obtient une forme en fusée.

ANNEXE 4 : Réalisation d'une transfusion sanguine chez le furet

Indication : Anémie sévère

Symptômes caractéristiques : pâleur des muqueuses, tachypnée, tachycardie

Ht < 15% [35;60]

Prélèvement

Donneur : tout furet en bonne santé, de poids >1kg, vacciné. A jeun depuis 2h.

Compatibilité donneur-receveur : Pas de groupes sanguins ni de réactions transfusionnelles → pas de crossmatch

Volume à prélever (en mL) = 1,2% x Poids (g)

Conservateur : 1mL de CPDA pour 6 à 7 mL de sang.

Prélèvement : Ponction sanguine à la veine cave crâniale :

Animal en décubitus dorsal, tondu et désinfecté en regard des premières côtes et du sternum.

La veine cave crâniale est ponctionnée à l'aveugle, en suivant des repères anatomiques précis : On enfonce une aiguille de 25G dans l'espace entre le manubrium sternal et la première côte et on dirige l'aiguille vers le membre postérieur opposé avec un angle d'environ 45°. Une fois l'aiguille enfoncée, on la retire doucement tout en maintenant une pression négative jusqu'à ce que le sang se collecte dans la seringue.

Contention : Chimique: anesthésie volatile à l'isoflurane au masque: 1.5L d'O₂, 3% d'isoflurane à l'induction puis 1.5% en entretien

ATTENTION : Isoflurane et sévoflurane induisent une séquestration des hématies dans la rate très rapide. (-36% d'Ht en 15 minutes d'anesthésie à l'isoflurane)!!!

Soins post dons : Réveil au chaud surveillé.

Administration par voie intraveineuse de 4 x Vprélevé à un rythme de 4mL/kg/h.

Administration

Injection IV à privilégier, si aucun site n'est possible Injection intra osseuse.

Volume de sang à transfuser = P(en livre)x30x(Htdésiré-Htpatient)/ Htdonneur.

Rythme d'administration : 0,5 à 1mL/min. Administration de tout le volume en moins de 4h pour limiter la prolifération bactérienne.

ANNEXE 5 : Etude statistique de l'évolution lors du stockage des différents paramètres testés

1/ La glycémie

Evolution de la glycémie en fonction du temps de stockage

	j0	j7	j14	j21	j28
Ech 1	7	6,86	6,57	6,17	5,8
Ech2	6,65	5,79	5,16	4,83	4,61
Ech 3	7	5,3	4,76	4,6	4,3
Ech 4	7	7	7	7	6
Ech 5	5,58	4,71	4,07	3,8	3,47
Ech 6	7	5,48	4,88	4,9	4,01
Ech 7	5,49	4,58	3,97	3,68	3,27
Ech 8	7	5,55	4,77	4,45	4,05
Ech 9	5,83	5,01	4,26	3,97	3,39
Ech 10	5,77	4,97	4,1	4,02	3,37

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j7

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	5,490	7,000	6,432	0,673
j7	10	0	10	4,580	7,000	5,525	0,831

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :
] 0,513; 1,301 [

Différence	0,907
t (Valeur obs)	5,205
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	0,001
alpha	0,05

Interprétation du test :
H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.
Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.
Étant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification $\alpha=0.05$, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.
Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.06%.

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j14

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	5,490	7,000	6,432	0,673
j14	10	0	10	3,970	7,000	4,954	1,048

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :
] 0,951; 2,005 [

Différence	1,478
t (Valeur obs)	6,341
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	0,000
alpha	0,05

Interprétation du test :
 H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.
 Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.
 Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0.05, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.
 Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j21

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	5,490	7,000	6,432	0,673
j21	10	0	10	3,680	7,000	4,742	1,075

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :
] 1,153; 2,227 [

Différence	1,690
t (Valeur obs)	7,114
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	< 0,0001
alpha	0,05

Interprétation du test :
 H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.
 Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.
 Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0.05, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.
 Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j28

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	5,490	7,000	6,432	0,673
j28	10	0	10	3,270	6,000	4,227	0,987

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :
] 1,728; 2,682 [

Différence	2,205
t (Valeur obs)	10,449
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	< 0,0001
alpha	0,05

Interprétation du test :
 H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.
 Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.
 Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0.05, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.
 Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.

Tableau récapitulatif du test de Student bilatéral entre j0 et les différents temps de stockage

	j0	j7	j14	j21	j28
Moyenne	6,432	5,525	4,954	4,472	4,227
Ecart Type	0,673	0,831	1,048	1,075	0,987
p par rapport à j0		0,001	0	0	0

2/ La lactatémie

Evolution de la lactatémie en fonction du temps de stockage

	j0	j7	j14	j21	j28
Ech 1	1,69	8,84	12	14,4	16,2
Ech 2	1,11	9,38	12	14,6	15,9
Ech 3	2,3	4,5	9,8	10,9	12
Ech 4	1,7	5,7	6	11,8	11,7
Ech 5	3,6	8,2	10,2	13	14
Ech 6	1,1	6,9	7,9	13,3	18,7
Ech 7	1	6,5	7,8	16,3	17,5
Ech 8	2,1	6,2	13,2	15,1	16,3
Ech 9	2,7	6,8	7,8	10,8	13,9
Ech 10	2,3	8	9,6	10,6	16,5

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j7

Statistiques descriptives :

Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	1,000	3,600	1,960	0,817
j7	10	0	10	4,500	9,380	7,102	1,501

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :

]-6,384 ; -3,900 [

Différence	-5,142
t (Valeur obs)	-9,368
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	< 0,0001
alpha	0,05

Interprétation du test :

H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.

Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.

Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification $\alpha=0.05$, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j14

Statistiques descriptives :

Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	1,000	3,600	1,960	0,817
j14	10	0	10	6,000	13,200	9,630	2,290

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :

]-9,354 ; -5,986 [

Différence	-7,670
t (Valeur obs)	-10,302
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	< 0,0001
alpha	0,05

Interprétation du test :

H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.

Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.

Étant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification $\alpha=0.05$, on doit rejeter l'hypothèse nulle H_0 , et retenir l'hypothèse alternative H_a .

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H_0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j21

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	1,000	3,600	1,960	0,817
j21	10	0	10	10,600	16,300	13,080	2,008

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :							
Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :							
] -12,932 ; -9,308 [							
Différence	-11,120						
t (Valeur obs)	-13,883						
t (Valeur c)	2,262						
DDL	9						
p-value (bilat)	< 0,0001						
alpha	0,05						

Interprétation du test :							
H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.							
Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.							
Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0.05, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.							
Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.							

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j28

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	1,000	3,600	1,960	0,817
j28	10	0	10	11,700	18,700	15,270	2,297

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :							
Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :							
] -15,315 ; -11,305 [							
Différence	-13,310						
t (Valeur obs)	-15,017						
t (Valeur c)	2,262						
DDL	9						
p-value (bilat)	< 0,0001						
alpha	0,05						

Interprétation du test :							
H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.							
Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.							
Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0.05, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.							
Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.							

Tableau récapitulatif du test de Student bilatéral entre j0 et les différents temps de stockage

	j0	j7	j14	j21	j28
Moyenne	1,96	7,102	9,63	13,08	15,27
Ecart Type	0,817	1,501	2,29	2,008	2,297
p par rapport j0		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

3/ Le pH

Evolution du pH en fonction du temps de stockage

	j0	j7	j14	j21	j28
Ech 1	6,92	6,62	6,6	6,6	6,6
Ech 2	6,91	6,7	6,61	6,6	6,6
Ech 3	7,01	6,65	6,6	6,6	6,6
Ech 4	6,88	6,6	6,6	6,6	6,6
Ech 5	7,03	6,67	6,6	6,6	6,6
Ech 6	7	6,65	6,6	6,6	6,6
Ech 7	7,08	6,66	6,6	6,6	6,6
Ech 8	7,03	6,65	6,6	6,6	6,6
Ech 9	7,09	6,67	6,6	6,6	6,6
Ech 10	7,03	6,69	6,6	6,6	6,6

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j7

Statistiques descriptives :

Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	6,880	7,090	6,998	0,072
j7	10	0	10	6,600	6,700	6,656	0,030

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :

] 0,296; 0,388 [

Différence	0,342
t (Valeur obs)	16,786
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	< 0,0001
alpha	0,05

Interprétation du test :

H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.

Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.

Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification $\alpha=0.05$, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j14

Statistiques descriptives :

Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	6,880	7,090	6,998	0,072
j14	10	0	10	6,600	6,610	6,601	0,003

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :

] 0,345; 0,449 [

Différence	0,397
t (Valeur obs)	17,189
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	< 0,0001
alpha	0,05

Interprétation du test :

H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.

Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.

Étant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0.05, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.

Tableau récapitulatif du test de Student bilatéral entre j0 et les différents temps de stockage

	j0	j7	j14
Moyenne	6,998	6,656	6,601
Ecart Type	0,072	0,03	0,003
p par rapport j0		<0,0001	<0,0001

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j21

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	3,100	3,700	3,490	0,191
j21	10	0	10	3,800	5,000	4,650	0,337

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :							
Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :							
] -1,308 ; -1,012 [							
Différence	-1,160						
t (Valeur obs)	-17,759						
t (Valeur c)	2,262						
DDL	9						
p-value (bilat)	< 0,0001						
alpha	0,05						

Interprétation du test :							
H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.							
Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.							
Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0.05, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.							
Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.							

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j28

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	3,100	3,700	3,490	0,191
j28	10	0	10	4,000	5,400	4,940	0,497

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :							
Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :							
] -1,689 ; -1,211 [							
Différence	-1,450						
t (Valeur obs)	-13,722						
t (Valeur c)	2,262						
DDL	9						
p-value (bilat)	< 0,0001						
alpha	0,05						

Interprétation du test :							
H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.							
Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.							
Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0.05, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.							
Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.01%.							

Tableau récapitulatif du test de Student bilatéral entre j0 et les différents temps de stockage

	j0	j7	j14	j21	j28
Moyenne	3,49	3,75	4,23	4,65	4,94
Ecart Type	0,191	0,272	0,406	0,337	0,497
p par rapport j0		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j21

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	34,000	45,000	40,900	3,929
j21	10	0	10	37,000	90,000	66,700	21,024

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :
] -40,067 ; -11,533 [

Différence	-25,800
t (Valeur obs)	-4,091
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	0,003
alpha	0,05

Interprétation du test :
 H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.
 Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.
 Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification $\alpha=0.05$, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.
 Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.27%.

Résultats du test de Student bilatéral entre j0 et j28

Statistiques descriptives :							
Variable	Observations	données ma	données ma	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
j0	10	0	10	34,000	45,000	40,900	3,929
j28	10	0	10	36,000	72,000	59,200	12,831

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :
] -26,429 ; -10,171 [

Différence	-18,300
t (Valeur obs)	-5,093
t (Valeur c)	2,262
DDL	9
p-value (bilat)	0,001
alpha	0,05

Interprétation du test :
 H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.
 Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.
 Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification $\alpha=0.05$, on doit rejeter l'hypothèse nulle H0, et retenir l'hypothèse alternative Ha.
 Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0.07%.

Tableau récapitulatif du test de Student bilatéral entre j0 et les différents temps de stockage

	j0	j7	j14	j21	j28
Moyenne	40,9	55,3	52,7	66,7	59,2
Ecart Type	3,929	13,557	12,711	21,024	12,831
p par rapport j0		0,005	0,012	0,003	0,001

CONSTITUTION D'UNE BANQUE DE SANG DE FURET

Etude bibliographique de la transfusion dans cette espèce et évaluation d'un protocole de prélèvement et de stockage de sang total

NOM et Prénom : TODESCHINI Charlotte

Résumé

L'anémie est une pathologie relativement courante chez le furet, elle nécessite dans les cas les plus graves un traitement rapidement mis en place : la transfusion sanguine. Du fait de l'absence de groupes sanguins et de la rareté des réactions transfusionnelles dans cette espèce, c'est un acte sûr. La difficulté réside dans le fait de trouver un donneur en urgence, aucun protocole de stockage n'existant dans cette espèce.

Ce travail a donc porté sur l'étude d'un protocole de prélèvement et de stockage de sang de furet en vue d'établir une banque de sang. Des études biochimiques et hématologiques sur des échantillons de sang stockés sur Citrate Phosphate Dextrose Adénine pendant 4 semaines ont montré de rapides et irréversibles lésions des hématies, rendant impossible leur transfusion dès une semaine de stockage.

Mots clés

ANEMIE, TRANSFUSION SANGUINE, GROUPE SANGUIN, STOCKAGE DE SANG, BANQUE DE SANG, HEMATIE, CARNIVORE, FURET

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Dr. ROUX-DESCHAMPS F.

Assesseur : Dr. CORDONNIER LEFORT N.

Invité : Dr. PIGNON CP.

ESTABLISHMENT OF FERRET'S BLOOD BANK

Bibliographical study of ferret's transfusion and evaluation of a procedure of whole blood collection and storage

SURNAME :TODESCHINI

Given name : Charlotte

Summary

Anemia is a relatively common pathology by ferret. In the most severe cases, it needs an urgent treatment : blood transfusion. It appears to be a safe procedure as no blood groups and no transfusion reactions are reported. However finding a ferret donor could be challenging and no data are available concerning ferrets blood storage.

The objective of this study is to set up a procedure of ferrets whole blood collection and storage in order to create blood bank. Biochemical and hematological analyses on whole blood stored with CPDA during 4 weeks revealed rapid and irreversible red blood cells lesions. These results lead us not to recommend transfusion of ferret's whole blood with CPDA after one week of storage.

Keywords

ANEMIA, BLOOD TRANSFUSION, BLOOD GROUPS, BLOOD STORAGE, BLOOD BANK, RED BLOOD CELL, CARNIVORE, FERRET

Jury :

President : Pr.

Director : Dr. ROUX-DESCHAMPS F.

Assessor : Dr. CORDONNIER-LEFORT N.

Guest : Dr. PIGNON CP.