

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX	7
LISTE DES FIGURES	9
LISTE DES ABREVIATIONS	11
INTRODUCTION	13
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA RATE CHEZ LES OISEAUX	17
1. Description de l'anatomie, l'histologie et la physiologie splénique, et étude des différentes causes de splénomégalie	19
1.1. Anatomie et histologie splénique	19
1.2. Physiologie splénique	22
1.3. Causes de splénomégalie	23
1.3.1. Origine infectieuse	23
1.3.1.1. La chlamyphilose	23
1.3.1.2. Toute infection à l'origine d'une leucocytose	25
1.3.2. Origine non infectieuse	25
2. Etude radiographique de la rate chez les oiseaux	26
2.1. Optimisation de la qualité des clichés radiographiques chez les oiseaux	26
2.1.1. Technique radiographique	26
2.1.2. Les films et les écrans	27
2.1.3. Préparation de l'oiseau pour la radiographie	27

2.1.4. Moment de la prise du cliché	27
2.1.5. Intérêt de l'anesthésie	28
2.1.6. Positionnement de l'oiseau pour les clichés de la cavité cœlomique	28
2.2. Données connues concernant l'aspect radiographique de la rate et étude de quelques méthodes de mesure des organes de la cavité cœlomique des oiseaux	29
2.2.1. Visualisation de la rate sur l'incidence ventro-dorsale	30
2.2.2. Visualisation de la rate sur l'incidence latérale droite	32
2.2.3. Taille et forme radiographique de la rate	33
2.2.4. Méthodes de mesure des organes de la cavité cœlomique des oiseaux	34
Conclusion de la première partie concernant l'étude bibliographique de la rate chez les oiseaux	39
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE DE LA TAILLE DE LA RATE CHEZ LE GRIS DU GABON	41
Introduction	43
1. Matériel et méthode	45
1.1. Mise en place et validation du protocole de mesure	45
1.1.1. Réalisation des clichés radiographiques	45
1.1.2. Mesures réalisées sur les clichés radiographiques et rapports de dimensions utilisés	45
1.1.3. Evaluation de la concordance entre les séries de mesures des deux opérateurs	48
1.1.3.1 Méthodes numériques : le coefficient de concordance de Lin et le coefficient de corrélation de Pearson	48
1.1.3.2. Méthode graphique : les courbes de Bland et Altman	49

1.2. Application du protocole de mesure aux objectifs de l'étude	50
1.2.1. Sélection de la population d'étude	50
1.2.2. Les trois groupes d'étude	51
1.2.3. Test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyphilose ou d'une leucocytose	52
1.2.4. Quantification du pouvoir discriminant des rapports de dimensions entre les oiseaux atteints de chlamyphilose et les autres : Courbes ROC	53
1.2.5. Vérification de l'affirmation de EVANS (2008) a propos du diamètre physiologique de la rate et de la fréquence à laquelle la rate est visible sur une radiographie de Gris du Gabon	54
2. Résultats	55
2.1. Evaluation de la concordance entre les séries de mesures des deux opérateurs	55
2.1.1. Méthodes numériques : le coefficient de concordance de Lin et le coefficient de corrélation de Pearson	55
2.1.2. Méthode graphique : les courbes de Bland et Altman	58
2.1.2.1. Courbes de Bland et Altman pour les dimensions de la rate : H et L	58
2.1.2.2. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : HK	61
2.1.2.3. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : CH	62
2.1.2.4. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : SK	64
2.1.2.5. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : LF	65

2.1.2.6. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : WF	67
2.2. Test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyophilose ou d'une leucocytose	69
2.2.1. Test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyophilose	69
2.2.2. Quantification du pouvoir discriminant des rapports de dimensions entre les oiseaux atteints de chlamyophilose et les autres : Courbes ROC	70
2.2.3. Test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence d'une leucocytose	73
2.3. Vérification de l'affirmation de EVANS (2008), a propos du diamètre physiologique de la rate et de la fréquence à laquelle la rate est visible sur une radiographie de Gris du Gabon	74
3. Discussion	75
3.1. A propos de la concordance entre les séries de mesures des deux opérateurs	75
3.2. A propos de l'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyophilose	77
3.3. A propos de l'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence d'une leucocytose	78
3.4. A propos de l'affirmation de EVANS (2008) concernant le diamètre physiologique de la rate et de la fréquence à laquelle la rate est visible sur une radiographie de Gris du Gabon	78
CONCLUSION	81
BIBLIOGRAPHIE	85

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Liste des Tableaux

Tableau 1. Interprétation de la valeur du coefficient de concordance de Lin	49
Tableau 2. Valeurs seuils choisies pour les différentes dimensions mesurées	50
Tableau 3. Médianes (n=60) avec premier et troisième quartiles des dimensions mesurées par les deux opérateurs	55
Tableau 4. Médianes avec premier et troisième quartiles des dimensions mesurées par l'opérateur novice des groupes chlamydophilose, leucocytose et témoin	56
Tableau 5. Médianes des rapports de dimensions mesurées par l'opérateur novice avec leurs premier et troisième quartiles	56
Tableau 6. Concordance entre les dimensions mesurées par les deux opérateurs (n=60)	57
Tableau 7. Médianes et premier et troisième quartiles des rapports de dimensions pour le groupe chlamydophilose (tri par ordre décroissant d'écart relatif)	69
Tableau 8. Médianes des rapports de dimensions pour le groupe leucocytose (tri par ordre décroissant d'écart relatif)	73
Tableau 9. Valeurs (en mm) des médianes des dimensions de la rate en comparaison à celle de 1,5 fois la largeur du fémur dans le groupe témoin (avec la série de mesures de l'opérateur novice) (n=18)	74

Liste des Figures

Figure 1. Anatomie trabéculaire de la rate chez les oiseaux (GLICK, 2000)	21
Figure 2. Représentation schématique en 3D d'un capillaire ellipsoïde entouré des cellules dites « associées à la région ellipsoïde » (EAC) (GLICK, 2000)	22
Figure 3. Cliché normal en incidence ventro-dorsale d'un Gris du Gabon. La rate n'est pas visible. Service d'imagerie du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort	31
Figure 4. Cliché d'un Gris du Gabon en bonne santé en incidence latérale droite. Service d'imagerie du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort	33
Figure 5. Mesures réalisées pour déterminer des valeurs de référence de la silhouette cardiaque chez les psittacidés en incidence ventro-dorsale (STRAUB <i>et al.</i> , 2002)	35
Figure 6. Vue radiographique latérale d'un ara avec les mesures effectuées dans une étude visant à établir des valeurs de référence pour le proventricule (DENNISON <i>et al.</i> , 2008)	36
Figure 7. Zoom permettant de mieux comprendre la mesure du diamètre du proventricule et la hauteur maximale de la carène du bréchet (DENNISON <i>et al.</i> , 2008)	37
Figure 8. Représentation des dimensions qui ont été mesurées pour notre protocole	47
Figure 9. Courbes ROC pour des tests ayant une capacité de discrimination idéale, moyenne ou nulle (PERNEGER, PERRIER, 2004)	54
Figure 10. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de H (n=60)	59
Figure 11. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de L (n=60)	60
Figure 12. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de HK (n=60)	61

Figure 13. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de CH (n=60)	63
Figure 14. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de SK (n=60)	64
Figure 15. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de LF (n=60)	66
Figure 16. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de WF (n=60)	67
Figure 17. Courbe ROC pour le rapport H/HK. L'aire sous la courbe était égale à 0,83	71
Figure 18. Courbe ROC pour le rapport H/CH. L'aire sous la courbe était égale à 0,79	71
Figure 19. Courbe ROC pour le rapport H/LF. L'aire sous la courbe était égale à 0,81	72

Liste des abréviations

EAC : Cellule « associée à la région ellipsoïde »

ELISA : Enzyme-linked Immunosorbent Assay

CH : Hauteur radiographique maximale de la cavité cœlomique en passant par le centre de la rate, perpendiculairement à la surface du bréchet (bord dorsal du sternum/bord ventral des vertèbres)

H : Hauteur radiographique maximale de la rate

HK : Hauteur radiographique dorso-ventrale maximale du bréchet perpendiculaire à la carène ventrale du bréchet

IQR : Distance interquartile

L : Longueur radiographique maximale de la rate

LF : Longueur radiographique du fémur droit, donc celui qui apparaît le plus crânial depuis le bord dorsal de la tête fémorale jusqu'à l'extrémité des condyles

NAC : Nouveaux animaux de compagnie

NFS : Numération-formule sanguine

Op_exp : Opérateur expert

Op_nov : Opérateur novice

PCR : Polymerase Chain Reaction

SK : Distance radiographique entre le bord dorsal de la rate et le bord dorsal du sternum en passant perpendiculairement à la surface du bréchet et par l'intersection entre L et H

WF : Largeur radiographique du fémur droit

INTRODUCTION

Les Nouveaux Animaux de Compagnie (« NAC ») occupent une place de plus en plus importante dans la clientèle des cabinets vétérinaires. Parmi les nouveaux animaux de compagnie, les Psittacidés sont les oiseaux les plus fréquemment rencontrés. Comme le Gris du Gabon représente une espèce courante en consultation aviaire, nous avons décidé de réaliser notre étude plus particulièrement chez cette espèce.

Le principal objectif de cette thèse était de contribuer à améliorer les connaissances cliniques concernant le Gris du Gabon.

Nous avons décidé d'étudier plus particulièrement la rate, car elle est le principal organe lymphopoiétique chez les oiseaux. Nous verrons qu'elle ne possède pas de rôle de réservoir sanguin comme chez les mammifères. C'est pourquoi nous avons formulé l'hypothèse d'une splénomégalie lorsqu'un oiseau présente une leucocytose. La rate est un organe assez peu accessible, dont l'évaluation de la taille et la forme se fait généralement sur des radiographies. Cet examen complémentaire étant facile et rapide à effectuer, c'est celui qui a été choisi pour étudier la rate. Il est très fréquent d'avoir recours à cet examen complémentaire lors de la consultation aviaire, car il permet d'avoir une vision globale de la forme et de la disposition des organes dans la cavité cœlomique. Cependant, encore assez peu de données de référence sont disponibles sur la technique de mesure des organes de la cavité cœlomique. Il serait donc utile pour le clinicien de disposer d'un outil de quantification simple de la taille de la rate sur un cliché radiographique.

Cette thèse s'organise en deux grandes parties. Dans un premier temps, nous présentons les données bibliographiques déjà connues concernant l'anatomie, l'histologie et la physiologie splénique. Puis nous présenterons toutes les origines d'une splénomégalie chez les Psittacidés, et plus particulièrement la chlamyphilose, une zoonose répandue chez le Gris du Gabon. Ensuite nous exposons les principales techniques radiographiques à employer afin d'optimiser la qualité des clichés. Enfin nous avons rassemblé la bibliographie concernant l'aspect radiographique de la rate et les études portant sur la mesure de quelques organes cœlomiques. Ceux-ci nous ont permis de

mettre en place notre protocole de mesure de la rate sur des clichés de Gris du Gabon.

Dans un deuxième temps, nous exposons l'étude rétrospective que nous avons réalisée sur des radiographies de quatre-vingt-dix Gris du Gabon. Le premier objectif du travail expérimental réalisé était de **mettre en place puis valider la reproductibilité d'un protocole de mesure radiographique de la rate**. Ce protocole avait pour but de déterminer un rapport de dimensions. Ce rapport intégrait une dimension de la rate elle-même, et une dimension d'une autre structure anatomique, dite de référence. Pour choisir quelles dimensions utiliser pour faire ce rapport, nous avons regardé lesquelles seraient les plus reproductibles entre deux opérateurs. Ces derniers ont alors réalisé deux séries de mesures sur l'ensemble des clichés radiographiques de Gris du Gabon. Le rapport de dimensions choisi pourrait ainsi permettre à d'autres vétérinaires de mesurer la rate de façon comparable.

Par la suite, les résultats de ce protocole de mesure ont été mis en application. Nous avons avancé l'hypothèse d'une splénomégalie lorsqu'un oiseau présente une leucocytose. Il nous a alors paru intéressant de regarder s'il existerait, dans notre population d'étude, une **association entre la taille radiographique de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence d'une leucocytose**.

Par ailleurs, nous rappelons que la littérature associe le plus souvent une splénomégalie à la présence d'une chlamyphilose. Il serait intéressant de déterminer si certaines des mesures radiographiques réalisées dans le cadre de notre protocole seraient de bons indicateurs de chlamyphilose. Nous avons donc cherché si, dans notre population d'étude, il existerait une **association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyphilose**.

Enfin, nous avons vérifié si nos mesures radiographiques de la rate étaient en accord avec les données de la littérature concernant sa taille et la fréquence à laquelle elle est visible.

PREMIERE PARTIE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA RATE CHEZ LES OISEAUX

1. Description de l'anatomie, l'histologie et la physiologie splénique, et étude des différentes causes de splénomégalie

L'étude de l'anatomie et de la physiologie de la rate chez les oiseaux sont un préambule indispensable à notre étude. En effet il est important de se familiariser avec sa forme et sa localisation, ainsi que ses rapports avec les organes adjacents afin de savoir où la rechercher sur les clichés radiographiques. De plus sa physiologie est à la base de notre hypothèse de splénomégalie lors de leucocytose.

1.1. Anatomie et histologie splénique

La rate est de forme variable selon les espèces, d'ovale chez les pigeons et les poules, à triangulaire chez les canards et les oies, ou encore allongée chez les perruches (DONELEY, 2011 et O'MALLEY, 2005).

Globuleuse et rouge foncé, elle est localisée à droite à mi-hauteur de la cavité cœlomique, dorsalement au proventricule (entre le proventricule et le ventricule (DONELEY, 2011 et O'MALLEY, 2005)), près de l'isthme et adjacente à la surface dorsale du lobe hépatique droit (DUCHESNE, 2004, GLICK, 1986, HARCOURT-BROWN, 2005 et O'MALLEY, 2005). Elle est recouverte d'une capsule fine, sans trabécule (DUCHESNE, 2004).

Il existe des rates accessoires se situant de façon adjacente, crâniale et caudale à la rate. Il a été remarqué une hypertrophie de la rate accessoire crâniale lors de splénectomie (GLICK, 1986).

Tout comme chez les mammifères, il existe une pulpe rouge et une pulpe blanche (DONELEY, 2011, DUCHESNE, 2004 et GLICK, 1986). La distinction entre les pulpes rouge et blanche est cependant faible (DUCHESNE, 2004).

La pulpe blanche comprend la gaine lymphoïde périartérielle, les centres germinatifs et la région périellipsoïde de la pulpe blanche (GLICK, 1986).

L'artère splénique pénètre dans la rate pour donner naissance aux artères centrale et trabéculaire. L'artère centrale est entourée par la gaine lymphoïde périartérielle dans laquelle se trouvent de nombreux lymphocytes, macrophages et cellules dendritiques. On considère que cette gaine est sous contrôle du thymus. On a identifié des centres germinatifs sous contrôle de la bourse de Fabricius en périphérie des gaines lymphoïdes périartérielles. L'artère centrale pénètre ensuite dans la région

périellipsoïde pour se ramifier en capillaires pénicillés (ou pénicilliformes). La partie moyenne de ces capillaires est entourée par les capillaires ellipsoïdes (ou capillaires à housse ou encore capillaires entourés par des macrophages formant la housse de Scheigger Seidel). Ces capillaires contiennent des cellules « associées à la région ellipsoïde » (EAC), qui captent des antigènes passés au travers de l'endothélium sinusoïde de la région moyenne des capillaires pénicillés (GLICK, 1986).

Une fois activées, les cellules EAC migrent vers la région périellipsoïde de la pulpe blanche, la pulpe rouge, les gaines lymphoïdes périartérielles et les centres germinatifs (GLICK, 1986).

La rate des mammifères possède une zone marginale (où l'on trouve des macrophages et des lymphocytes) tout autour des gaines lymphoïdes périartérielles, séparant cette zone de la pulpe rouge. Certains auteurs (GLICK, 1986) suggèrent la présence d'une zone marginale chez les oiseaux, qui inclurait les capillaires ellipsoïdes ainsi que les cellules EAC environnantes, les lymphocytes B et les macrophages. Ces différentes structures sont schématisées sur les Figures 1 et 2.

Figure 1. Anatomie trabéculaire de la rate chez les oiseaux (GLICK, 2000). TA : artère trabéculaire, TV : veine trabéculaire, CA : artère centrale, PC : capillaire pénicillé, E : capillaire ellipsoïde ou à housse, S : sinus, BC : cordon de Billroth, PWP : pulpe blanche périellipsoïde, PALS : gaine lymphoïde périartérielle, GC : centre germinatif

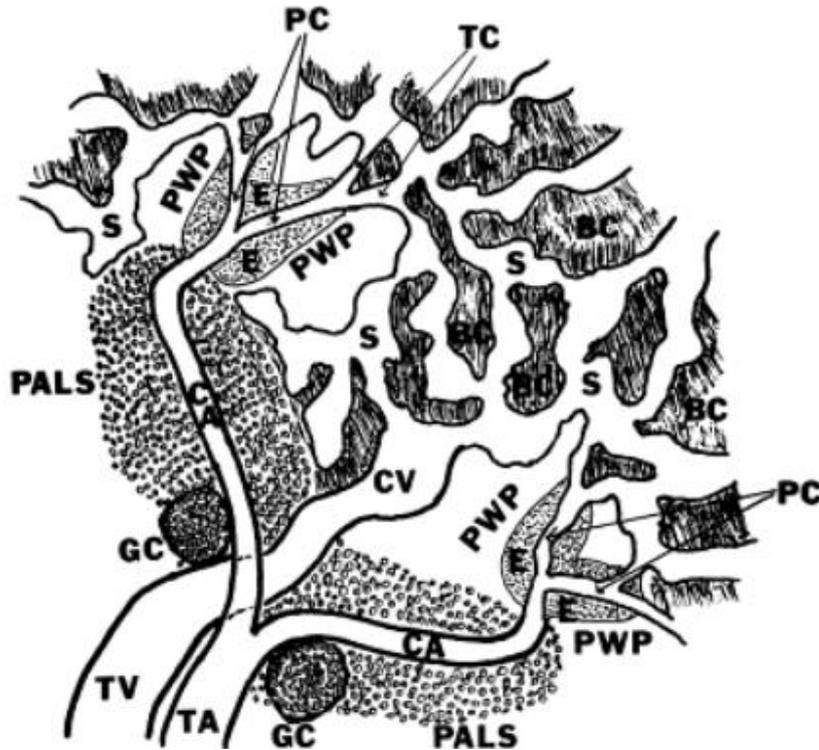
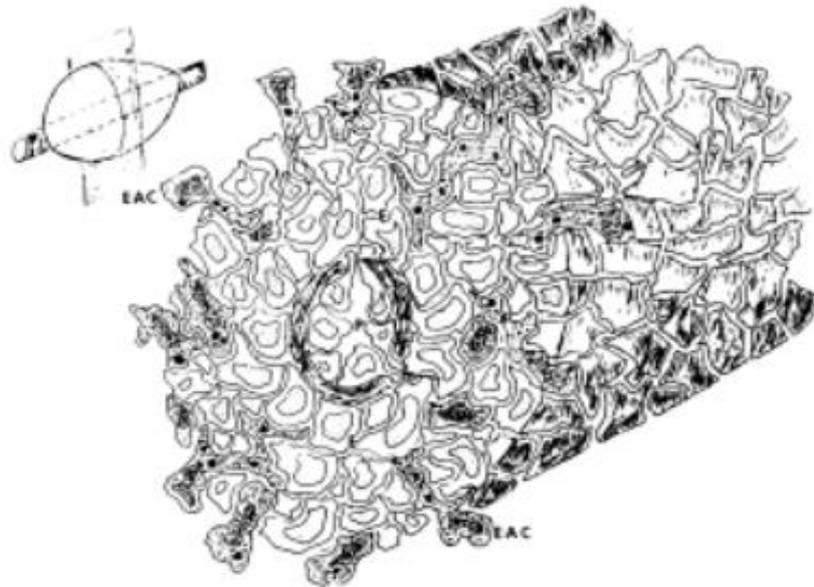


Figure 2. Représentation schématique en 3D d'un capillaire ellipsoïde entouré des cellules dites « associées à la région ellipsoïde » (EAC) (GLICK, 2000)

EAC : cellule associée à la région ellipsoïde, E : capillaire ellipsoïde



Après ce bref rappel anatomique et histologique, nous allons à présent envisager la physiologie de la rate chez les oiseaux, afin de mieux comprendre son implication dans notre étude.

1.2. Physiologie splénique

Le rôle de la rate consiste à phagocyter les vieux érythrocytes, elle participe également à la lymphopoïèse ainsi qu'à la production des anticorps (DONELEY, 2011, HARCOURT-BROWN, 2005 et O'MALLEY, 2005). Elle n'a cependant aucun rôle hématopoïétique (DONELEY, 2011 et HARCOURT-BROWN, 2005).

Elle ne constitue pas un réservoir sanguin comme chez les mammifères, elle est donc relativement plus petite chez les oiseaux (DONELEY, 2011 et O'MALLEY, 2005).

Sa croissance est maximale durant les six premières semaines après l'éclosion. Elle atteint sa taille maximale à l'âge de 10 semaines (rapport poids de la rate sur poids du corps). Les nombreuses cellules jouant un rôle essentiel dans la réponse immunitaire ont été décrites dans des études cytoarchitecturales de la rate (GLICK, 1986).

Chez les oiseaux, l'autre organe lymphopoïétique est la Bourse de Fabricius, elle produit majoritairement des lymphocytes B, mais elle n'est normalement pas visible sur des radiographies.

C'est à partir de l'implication de la rate dans la lymphopoïèse que découle notre hypothèse de splénomégalie lorsque l'on observe une leucocytose chez un individu. Cependant une splénomégalie peut avoir de nombreuses origines. Ainsi nous allons à présent exposer toutes les causes de splénomégalie.

1.3. Causes de splénomégalie

Une splénomégalie peut être d'origine infectieuse ou non infectieuse, avec une large prédominance des causes infectieuses.

1.3.1. Origine infectieuse

1.3.1.1. La chlamyphilose

Nous rappelons que la chlamyphilose connue également sous le nom de chlamydiose, est une zoonose causée par *Chlamyphila psittaci* (SMITH *et al.*, 2005).

Il s'agit d'une bactérie Gram négatif intracellulaire stricte qui est pathogène dans de nombreuses espèces telles que l'Homme, les oiseaux, les vaches, les chats, les chiens, les chèvres, les moutons et les porcs (SMITH *et al.*, 2005).

Chez les oiseaux, la contamination se fait par voie directe ou indirecte horizontale à partir des sécrétions nasales, des selles, des urines ou de la salive. La bactérie est inhalée à partir d'aérosols contaminés, puis phagocytée par les cellules épithéliales des voies respiratoires, elle se multiplie dans des vacuoles intracytoplasmiques puis se dissémine dans le système réticulo-endothélial (SMITH *et al.*, 2005). Le portage asymptomatique chez les oiseaux est fréquent. Des facteurs prédisposent à l'expression clinique : stress, déséquilibre alimentaire, maladie intercurrente...

La maladie peut être aiguë, subaiguë ou chronique, et les symptômes très variés. On note généralement une dégradation de l'état général avec des symptômes respiratoires, digestifs, ophtalmologiques ou encore neurologiques (SMITH *et al.*, 2005).

La méthode diagnostique de référence est nécropsique. Elle consiste à effectuer des calques du péricarde, des sacs aériens, de la rate ou de la capsule hépatique afin de mettre en évidence les corps élémentaires dans le cytoplasme des cellules infectées. Le diagnostic ante-mortem est plus complexe (SMITH *et al.*, 2005).

Il est possible de réaliser un test sérologique. Il s'agit d'un test ELISA, et c'est celui-ci qui a été utilisé pour notre étude expérimentale (KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996 et TULLY *et al.*, 1996). Le test sérologique permet d'attester d'un contact avec la bactérie mais ne permet pas de faire la différence entre une infection présente ou passée. Deux tests ELISA peuvent être conseillé afin d'apprécier la cinétique de la séroconversion si le résultat du premier est ambigu (titre faiblement positif). Dans notre groupe *Chlamydophila* seuls ceux qui étaient franchement positifs ont été considérés porteurs.

Il est également possible d'effectuer un test PCR pour rechercher la présence du génome de *Chlamydophila psittaci*. Cependant il n'a pas été retenu pour l'étude car l'excrétion étant intermittente, un résultat négatif ne reflète pas le statut réel de l'oiseau (TREVEJO *et al.*, 1999).

L'élément le plus souvent mentionné dans la littérature comme origine d'une splénomégalie est la chlamydophilose (BRUGNE-CAZIN, 1986, DONELEY, 2011, DUCHESNE, 2004, FUDGE, 1996, FUHRER, 1989, HARCOURT-BROWN, 2005, KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011, QUINTON, 2011, RUPLEY, 1997 et STANFORD, 2010). La rate est parfois le seul organe lésé chez les Psittacidés (BRUGNE-CAZIN, 1986). C'est pourquoi nous avons étudié sur une population de Gris du Gabon, s'il existerait une association entre une taille radiographique de la rate rapportée à une dimension dite « de référence » (longueur du fémur par exemple) et la présence de chlamydophilose.

Cependant une splénomégalie observée de façon isolée ne prouve en aucun cas qu'il s'agit d'un cas de chlamydophilose (BRUGNE-CAZIN, 1986). Une splénomégalie visible à la radiographie associée à des signes cliniques en faveur d'une chlamydophilose sont suffisants pour suspecter la présence de cette affection. Il est alors conseillé d'initier les examens complémentaires nécessaires à sa mise en évidence (KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011).

1.3.1.2. Toute infection à l'origine d'une leucocytose

Nous rappelons que le principal rôle de la rate est lymphopoïétique, et qu'elle ne sert pas de réservoir de globules rouges comme chez les mammifères. Il est donc possible qu'une production accrue de leucocytes engendrant une leucocytose s'accompagne d'une augmentation de taille de la rate, bien qu'aucune étude n'existe sur ce point.

Une splénomégalie peut ainsi être associée à un processus infectieux bactérien tel que la tuberculose ou à une infection d'origine virale. Elle s'accompagne alors de l'augmentation de taille d'autres organes (foie, reins par exemple) (FUDGE, 1996, HARCOURT-BROWN, 2005, KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011 et QUINTON, 2011).

La numération leucocytaire normale chez un Gris du Gabon est inférieure à $10 \cdot 10^3$ leucocytes/ μL . C'est le seuil que nous avons retenu pour notre étude car c'est celui utilisé dans la clinique qui a recueilli les oiseaux de l'étude. Ce seuil est également celui mentionné dans une autre référence (HARRISON et LIGHTFOOT, 2006). Un autre auteur (HAWKINS *et al.*, 2013) augmente ce seuil à $15 \cdot 10^3$ leucocytes/ μL . Toutefois, aucune étude scientifique à ce jour ne permet de trancher entre l'une ou l'autre de ces valeurs.

1.3.2. Origine non infectieuse

Une splénomégalie peut aussi être la conséquence d'un trouble métabolique tel qu'une lipidose ou une hémochromatose (QUINTON, 2011 et RUPLEY 1997). Elle peut également résulter d'un processus néoplasique (KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011, QUINTON, 2011 et RUPLEY 1997) tel qu'un lymphome, mais ce dernier phénomène est plutôt décrit chez la perruche ondulée (KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011).

La rate est un organe de petite taille, et donc difficile à évaluer sur une radiographie. Nous allons donc à présent nous intéresser à l'optimisation de la technique radiographique afin d'obtenir des clichés de bonne qualité facilement interprétables. Puis nous exposerons les données de la littérature concernant les caractéristiques de sa silhouette radiographique.

2. Etude radiographique de la rate chez les oiseaux

La radiographie est un outil classique pour aider au diagnostic en médecine aviaire, sa réalisation est en effet rapide, accessible à la vaste majorité des cabinets et peu coûteuse. Il est cependant nécessaire de bien positionner l'oiseau pour obtenir des clichés de qualité permettant une bonne interprétation. Ceci est d'autant plus vrai lorsque l'on souhaite observer la rate car elle n'est pas un organe facilement visualisable.

2.1. Optimisation de la qualité des clichés radiographiques chez les oiseaux

2.1.1. Technique radiographique (RUPLEY, 1997 et SILVERMAN, TELL, 2010)

Il faut réduire le temps d'exposition au maximum (0,017 s ou moins) à cause de la fréquence respiratoire élevée de la majorité des oiseaux. Pour ce faire, il faut disposer d'une machine à rayons X capable de fournir une intensité de rayons élevée (au moins 300 mA). La valeur de mA nécessaire dépend du type d'écran. Pour augmenter le contraste on conseille de diminuer les kV sans passer sous 35-40 kV (on utilisera 45 à 55 kV idéalement). On aura ainsi une large gamme de gris. L'idéal est de pouvoir régler les kV à 2 kV près pour optimiser la qualité de l'image. Les radio numériques utilisent généralement des kV plus élevés, il reste cependant préférable de pouvoir les ajuster le plus finement possible. Il faut savoir que contrairement aux mammifères, même des petites variations des constantes pourront modifier visiblement la qualité de la radiographie, en particulier lorsque les kV sont bas. Les vieux générateurs sur lesquels les réglages sont mécaniques et non numériques seront moins précis, de plus l'émission des rayons X peut ne pas être la même entre deux clichés alors que les valeurs des constantes étaient identiques.

On n'utilise généralement pas de grille pour les radiographies d'oiseaux. Elles peuvent être utiles pour limiter la diffraction des rayons X chez les oiseaux de grande taille (>10 cm d'épaisseur).

Cependant, même chez ces individus de grande taille il n'est généralement pas indispensable de les utiliser car l'air présent dans les sacs aériens limite la diffraction.

On retiendra également qu'il ne faut pas réduire la distance entre le foyer et le film à moins de 76 cm sous peine de déformer l'image.

2.1.2. Les films et les écrans (RUPLEY, 1997 et SILVERMAN, TELL, 2010)

L'idéal est de posséder des écrans et des films haute définition. Pour réduire le temps de pose, on recommande d'utiliser des écrans rapides (avec des cristaux de terre-rare par exemple). On conseille d'utiliser des films à une émulsion avec des écrans haute définition rapides à terre-rares.

Un système numérique permettra d'obtenir les clichés de qualité optimale. Il permet de modifier l'image radiographique après la capture (ce qui évite d'avoir à reprendre le cliché), et l'image radiographique est disponible plus rapidement qu'avec les systèmes argentiques.

2.1.3. Préparation de l'oiseau pour la radiographie (SILVERMAN et TELL, 2010)

Les oiseaux, et particulièrement ceux qui sont affaiblis, souffrent plus des effets d'un jeun que les mammifères. Il faut donc être prudent si l'on décide de retirer la nourriture de l'oiseau avant la radio. Il est encore plus important d'éviter de gaver un oiseau à la sonde 4h avant le cliché, en particulier chez les oiseaux affaiblis chez qui les temps de vidange du jabot et du proventricule peuvent être allongés. Le stress associé à la contention physique ou chimique de l'oiseau nécessaire à la radiographie augmente le risque de régurgitation puis de fausse-route.

Le remplissage du tube digestif peut affecter l'aspect des organes internes. L'intestin peut par exemple déplacer le foie crânialement. De la même façon, si le proventricule est distendu, il peut empêcher la visualisation de la rate.

2.1.4. Moment de la prise du cliché (SILVERMAN et TELL, 2010)

De manière générale, le moment du cycle respiratoire auquel le cliché est pris a beaucoup moins d'impact que chez les carnivores domestiques. On préfère parfois prendre le cliché lorsque les sacs

aériens abdominaux sont distendus, afin d'augmenter la visibilité des viscères, en particulier chez les oiseaux avec beaucoup de tissu adipeux dans leur cavité coelomique. Il est cependant difficile de détecter le moment où ces sacs sont distendus chez les oiseaux vigiles à cause de leur fréquence respiratoire très élevée et de la difficulté à visualiser les mouvements respiratoires à travers les plumes. S'il n'est pas possible de faire coïncider la prise du cliché avec l'inspiration, on conseille de le prendre lors d'une pause dans le cycle respiratoire. Lorsque l'oiseau est intubé, il est possible d'insuffler de l'air dans les sacs aériens en ballonnant l'oiseau à partir du circuit anesthésique. On applique généralement une pression d'environ 4 à 5 cm d'eau (au maximum 8 à 10 cm d'eau selon l'espèce).

2.1.5. Intérêt de l'anesthésie (RUPLEY, 1997 et SILVERMAN, TELL, 2010)

On a souvent recours à l'anesthésie pour prévenir d'éventuelles blessures et diminuer l'exposition de l'opérateur.

Lorsque l'oiseau est anesthésié avec une anesthésie gazeuse, les clichés sont en général pris plus rapidement et de meilleure qualité que sur un oiseau vigile. Il est en effet plus facile de les positionner et le risque de fracture iatrogène moindre. Il est également possible d'insuffler les sacs aériens avec une pression positive chez l'oiseau intubé. Le flou cinétique est également réduit sous anesthésie. Il faut cependant bien évaluer l'état de l'oiseau avant de l'anesthésier. On conseille donc d'anesthésier l'oiseau tant que son état général le permet.

2.1.6. Positionnement de l'oiseau pour les clichés de la cavité coelomique (RUPLEY, 1997 et SILVERMAN, TELL, 2010)

Les petits oiseaux peuvent être scotchés directement à la cassette, ou bien on peut utiliser des montages en plexiglas disponibles dans le commerce. Si l'on utilise du scotch, il faut replier les extrémités pour pouvoir le retirer rapidement, et faire attention à retirer le scotch dans le sens de la pousse des plumes afin de ne pas les arracher. Lorsqu'on utilise des montages en plexiglas, ils se trouvent alors interposés entre l'oiseau et le film radiographique ou le capteur. Il faut alors augmenter légèrement les kV (de 2 à 4 kV) pour compenser l'épaisseur du montage à traverser. Cette compensation est d'autant plus nécessaire que le montage est épais et que les kV utilisés sont

faibles (40-50 kV). De plus ces montages augmentent la distance entre l'oiseau et le film/capteur, ce qui peut engendrer une très légère diminution de la netteté. Certains montages spécifiques permettent un contact direct entre l'oiseau et le film/capteur. On peut par exemple le scotcher sur une fine feuille acrylique ou sur un morceau de film radio blanc déjà développé.

On prend généralement des radiographies corps entier des oiseaux. Pour observer la cavité cœlomique, on prend d'abord une incidence latérale puis une incidence ventro-dorsale, sauf si ces manipulations et/ou l'anesthésie sont susceptibles d'engendrer un risque trop important pour la survie de l'oiseau.

Pour l'incidence ventro-dorsale les ailes sont étendues latéralement, les pattes caudalement et la carène du bréchet se trouve perpendiculaire à la table. Si le positionnement est correctement réalisé, la carène est superposée à la colonne vertébrale.

Pour l'incidence latérale les ailes sont étendues au dessus du dos, les pattes repoussées caudalement et le bréchet est parallèle à la table. L'aile et la patte se situant contre la table peuvent être placés légèrement crânialement par rapport à l'aile et la patte du dessus afin de pouvoir évaluer chaque membre séparément. Si le positionnement est correct les acetabuli sont superposés.

La radiographie représente ainsi un examen complémentaire facile et rapide à effectuer, à la portée de toutes les cliniques. Elle permet d'avoir une vision globale de la forme et de la disposition des organes dans la cavité cœlomique des oiseaux, à condition de prendre des clichés de bonne qualité. Nous allons à présent voir comment cet outil diagnostique peut nous aider à étudier plus précisément l'aspect de la rate.

2.2. Données connues concernant l'aspect radiographique de la rate et étude de quelques méthodes de mesure des organes de la cavité cœlomique des oiseaux

Les données radiographiques connues sur la rate sont empiriques, et aucune étude scientifique à ce jour ne propose de méthode rigoureuse permettant de la mesurer de façon reproductible ou d'affirmer que sa taille est anormale chez les oiseaux.

Quelques études ont cependant déjà été publiées concernant la mesure du cœur ou d'autres organes de la cavité cœlomique chez des Psittacidés. Nous allons les présenter dans cette partie car elles nous ont permis de mettre en place notre protocole de mesure par la suite.

2.2.1. Visualisation de la rate sur l'incidence ventro-dorsale

D'après la littérature, la rate n'est physiologiquement jamais visible chez aucune espèce d'oiseau en incidence ventro-dorsale (GOURLAY, 2003, KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011). Selon d'autres références (GOURLAY, 2003, HARCOURT-BROWN, 2005, KRAUTWALD-JUNGHANNS, HENDRICH-SCHUSTER, 1996 et QUINTON, 2011), elle est parfois visible sur une vue ventro-dorsale si elle est de taille très augmentée ; elle se superpose alors à la projection du foie et des reins. Son aire de projection se situe normalement entre le proventricule et le ventricule, à proximité et à droite de la ligne médiane de l'animal ; sa forme est ovale ou sphérique (QUINTON, 2011 et RUPLEY, 1997).

Un exemple de cliché radiographique normal de gris du Gabon est présenté Figure 3.

Figure 3. Cliché normal en incidence ventro-dorsale d'un Gris du Gabon. La rate n'est pas visible.
Service d'imagerie du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort.



2.2.2. Visualisation de la rate sur l'incidence latérale droite

En incidence latérale droite, la rate peut être observée physiologiquement, mais non systématiquement (GOURLAY, 2003, KRAUTWALD-JUNGHANNS, HENDRICH-SCHUSTER, 1996 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011). Elle peut être visible en incidence droite ou gauche (KRAUTWALD-JUNGHANNS et HENDRICH-SCHUSTER, 1996). Lorsqu'elle est visible, elle se situe dorsalement à la jonction entre le proventricule et le ventricule (EVANS, 2008, KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996, KRAUTWALD-JUNGHANNS, HENDRICH-SCHUSTER, 1996 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011) ou dorsalement à l'extrémité caudale du proventricule, au niveau de l'angle formé par le foie et le ventricule (GOURLAY, 2003). Elle est visible dans un tiers des cas chez les Psittacidés de grande taille (GOURLAY, 2003, KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011).

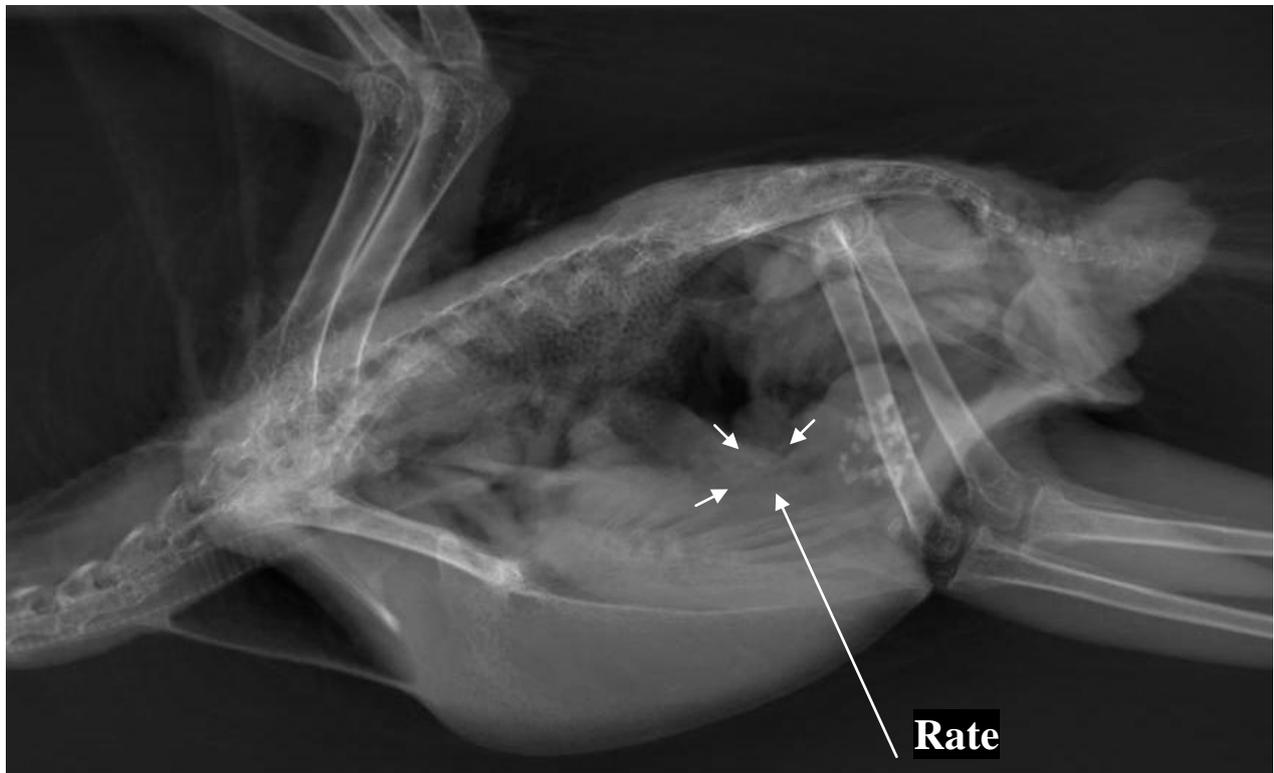
Il est à noter également que des anses intestinales peuvent être confondues avec la silhouette splénique lorsqu'elles sont visibles en coupe, selon leur état de réplétion (GOURLAY, 2003).

Chez les Psittacidés, et notamment le Gris du Gabon sa projection radiographique est sphérique (KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996, KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011) (Figure 4).

Quelle que soit l'espèce, sa densité est liquidienne mais légèrement plus radiodense que les anses intestinales environnantes ou les autres organes avoisinants (cœur, foie) (GOURLAY, 2003 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011).

Un exemple de radiographie normale chez un gris du Gabon en incidence latérale droite est présenté Figure 4.

Figure 4. Cliché d'un Gris du Gabon en bonne santé en incidence latérale droite. Service d'imagerie du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort.



Ainsi, pour notre étude, nous avons choisi de prendre des clichés en incidence latérale droite pour effectuer nos mesures.

2.2.3. Taille et forme radiographique de la rate

Sa taille varie considérablement selon l'espèce (KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011). Elle mesure environ 5 mm (GOURLAY, 2003, KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996, KRAUTWALD-JUNGHANNS, HENDRICH-SCHUSTER, 1996 et QUINTON, 2011) ou 6 mm (GOURLAY, 2003, KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011 et RUPLEY, 1997) de diamètre chez le Gris du Gabon (*Psittacus erithacus*) d'après la littérature. Cependant ces chiffres ne sont pas validés par une étude scientifique. Comme la rate apparaît parfois de forme ovoïde, nous avons donc choisi pour notre étude de mesurer sa longueur et sa hauteur.

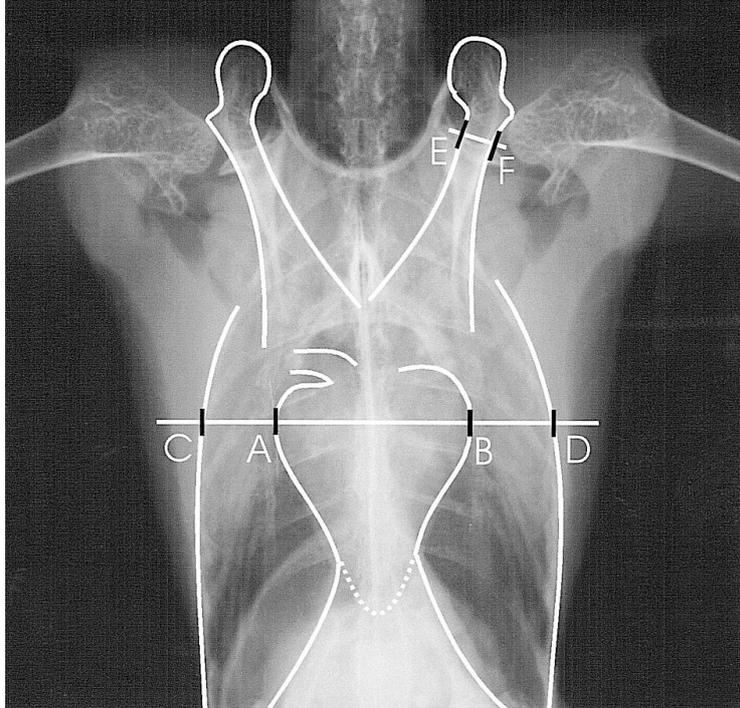
Un auteur considère que son diamètre chez un individu sain doit être inférieur à 1,5 fois la largeur du fémur (EVANS, 2008). Nous avons donc mesuré la largeur du fémur dans notre étude afin de voir si elle pourrait présenter une bonne concordance entre deux opérateurs.

2.2.4. Méthodes de mesure des organes de la cavité cœlomique des oiseaux

Comme aucune étude scientifique n'existe concernant la mesure de la rate, nous avons recherché les études réalisées sur d'autres organes de la cavité cœlomique.

Une équipe s'est intéressée à l'établissement de valeurs de référence concernant la silhouette cardiaque chez les Psittacidés (STRAUB *et al.*, 2002). Dans cette étude prospective, 78% des individus inclus étaient des Gris du Gabon (*Psittacus erithacus*). L'équipe a mesuré sur des clichés en incidence ventro-dorsale conventionnelle la largeur maximale du cœur, celle du thorax au même niveau que la précédente, la largeur de l'os coracoïde et la longueur du sternum (mesurée sur l'oiseau directement et non radiographiquement). Ces mesures sont représentées dans la Figure 5.

Figure 5. Mesures réalisées pour déterminer des valeurs de référence de la silhouette cardiaque chez les psittacidés en incidence ventro-dorsale. AB : largeur maximale du cœur, CD : largeur thoracique à la même hauteur que AB, EF : largeur de l'os coracoïde (STRAUB *et al.*, 2002)



Une autre équipe s'est intéressée à établir des valeurs de référence concernant la taille du proventricule chez 100 psittacités sains (DENNISON *et al.*, 2008).

Les mesures effectuées étaient les suivantes :

- Hauteur maximale de la cavité cœlomique en passant par la partie proximale du proventricule (de la limite ventrale du corps vertébral au bord dorsal du bréchet)
- Hauteur maximale entre la limite dorsale du proventricule et le bord dorsal du bréchet
- Diamètre du proventricule (mesuré au niveau de la jonction entre la dernière vertèbre thoracique et le synsacrum, et perpendiculairement à l'axe long du proventricule)
- Hauteur dorsoventrale maximale de la carène du bréchet en mesurant juste en arrière de l'os coracoïde et perpendiculairement au bord dorsal du bréchet.

Ces mesures sont représentées dans la Figure 6 et la Figure 7.

Figure 6. Vue radiographique latérale d'un ara avec les mesures effectuées dans une étude visant à établir des valeurs de référence pour le proventricule (DENNISON *et al.*, 2008). A : hauteur maximale de la cavité coelomique, B : hauteur maximale entre le bord dorsal du ventricule et du bréchet, C : diamètre du proventricule en regard de T (jonction entre la dernière vertèbre thoracique et le syncacrum), D : hauteur maximale de la carène du bréchet perpendiculairement au bord dorsal du bréchet.

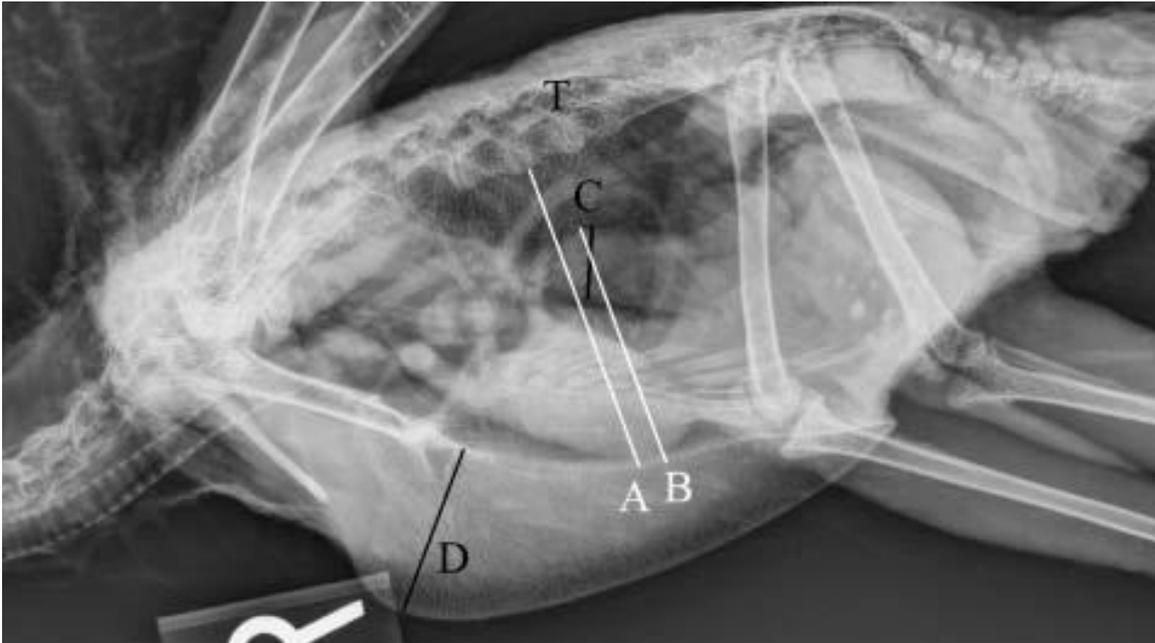
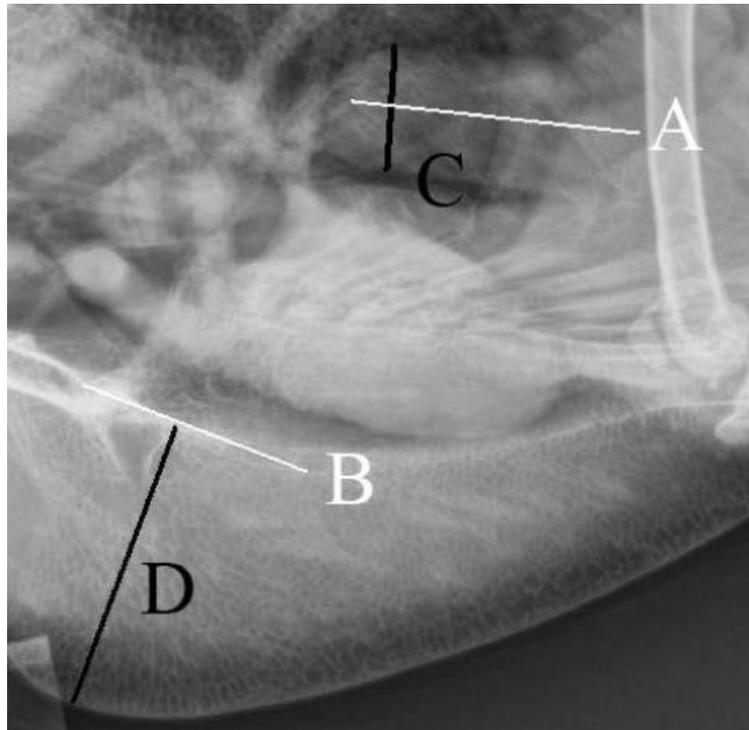


Figure 7. Zoom permettant de mieux comprendre la mesure du diamètre du proventricule et la hauteur maximale de la carène du bréchet (DENNISON *et al.*, 2008). A : axe long du proventricule, B : ligne juste en arrière de l'os coracoïde parallèle au bord dorsal du bréchet. A et C, ainsi que B et D sont perpendiculaires entre eux.



Les données radiographiques connues chez les oiseaux vont ainsi nous permettre d'établir un protocole de mesure radiographique de la silhouette de la rate, qui sera exposé dans la partie expérimentale de cette thèse. Nous nous sommes inspirés des travaux précédemment réalisés sur la taille du proventricule et de la silhouette cardiaque pour établir notre protocole de mesure. Nous avons vu que d'après la littérature, il est préférable de prendre des clichés radiographiques en incidence latérale pour observer la silhouette splénique. Elle est alors visible dans un tiers des cas, et se situe dorsalement à la jonction entre le proventricule et le ventricule. Concernant sa taille radiographique, elle varie entre 5 et 6 mm de diamètre chez le Gris du Gabon selon les références. De plus, un auteur affirme que son diamètre chez un individu sain doit être inférieur à 1,5 fois la largeur du fémur. Cependant ces affirmations ne reposent sur aucune étude scientifique. Il nous a donc paru intéressant de vérifier si nos mesures étaient en accord avec ces affirmations, une fois notre protocole de mesure radiographique validé.

Conclusion de la première partie concernant l'étude bibliographique de la rate chez les oiseaux

La rate est le principal organe lymphopoïétique des oiseaux, et elle n'a aucun rôle de stockage des hématies. Ces caractéristiques physiologiques nous ont conduit à formuler l'hypothèse qu'une leucocytose pourrait engendrer une splénomégalie. Nous avons vu que d'après la littérature, une splénomégalie est généralement liée à un processus infectieux, ou plus rarement à d'autres affections telles qu'une néoplasie. Or la chlamyophilose est la maladie infectieuse la plus fréquemment mentionnée comme associée à la présence d'une splénomégalie. Il nous a donc paru intéressant de vérifier dans une population avec des individus atteints de chlamyophilose, si nous pouvions confirmer cette association. De plus, un processus infectieux étant souvent lié à la présence d'une leucocytose, et nous avons formulé l'hypothèse d'une splénomégalie lorsqu'une leucocytose est présente. Nous avons donc cherché à mettre en évidence une association entre une leucocytose et une augmentation de la taille de la rate.

Pour répondre à ces objectifs, nous avons décidé d'étudier la rate sur des clichés radiographiques de Gris du Gabon. La radiographie est en effet la méthode la plus accessible et répandue pour observer la rate chez un oiseau. Ainsi, nous avons mis en place un protocole de mesure radiographique de la silhouette de la rate. Cependant cette méthode ne permettra en aucune façon de connaître la véritable taille de la rate, car il ne nous a pas été possible d'effectuer de mesure nécropsique.

Nous nous sommes inspirés des travaux précédemment réalisés sur la taille du proventricule et de la silhouette cardiaque chez les oiseaux pour établir notre protocole de mesure radiographique de la silhouette de la rate. Nous avons vu que d'après la littérature, il est préférable de prendre des clichés radiographiques en incidence latérale pour observer la silhouette splénique. Elle est alors visible dans un tiers des cas, et se situe dorsalement à la jonction entre le proventricule et le ventricule. Concernant sa taille radiographique, elle varie entre 5 et 6 mm de diamètre chez le Gris du Gabon selon les références. De plus, un auteur affirme que son diamètre chez un individu sain doit être inférieur à 1,5 fois la largeur du fémur. Cependant ces affirmations ne reposent sur aucune étude scientifique. Il nous a donc paru intéressant de vérifier si nos mesures étaient en accord avec ces affirmations, une fois notre protocole de mesure radiographique validé.

DEUXIEME PARTIE :

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA TAILLE DE LA
RATE CHEZ LES GRIS DU GABON

Introduction

Le premier objectif de notre étude était de mettre en place un protocole de mesure de la rate chez le Gris du Gabon à partir de clichés radiographiques. La reproductibilité de ce protocole a ensuite été examinée en le répétant par deux opérateurs différents.

Ce protocole a par la suite été utilisé pour répondre aux autres objectifs de notre étude. Tout d'abord, la littérature associe la présence d'une splénomégalie (radiographique) à celle d'une chlamyophilose. Nous avons donc cherché si, dans notre population d'étude, cette association était également présente.

De plus, la rate est le principal organe lymphopoiétique des oiseaux, et ne possède pas de rôle de réservoir sanguin. Nous avons donc formulé l'hypothèse d'une splénomégalie lorsqu'un oiseau présente une leucocytose. Nous avons alors cherché à mettre en évidence, toujours dans notre population d'étude, une association entre la taille radiographique de la rate telle que définie dans notre protocole de mesure, et la présence d'une leucocytose.

Enfin, notre protocole nous a également permis de vérifier deux affirmations de la littérature. D'abord celle d'un auteur qui considère que le diamètre de la rate chez un individu sain doit être inférieur à une fois et demi la largeur de son fémur. Et enfin le fait que la littérature rapporte que la rate n'est visible sur des clichés radiographiques de Gris du Gabon en incidence latérale que dans un tiers des cas.

1. Matériel et méthode

1.1. Mise en place et validation du protocole de mesure

Nous rappelons qu'il n'a pas été possible d'effectuer de mesure nécropsique de la taille de la rate. Pour répondre à nos objectifs, nous avons donc choisi de mesurer la silhouette de la rate sur des radiographies de Gris du Gabon. Pour valider la reproductibilité de cette technique de mesure, deux opérateurs différents l'ont mise en application.

1.1.1. Réalisation des clichés radiographiques

Chaque perroquet a été anesthésié au masque avec de l'isoflurane. Ils ont d'abord été induits au masque puis intubés et maintenus anesthésiés avec ce même gaz à une concentration de 3%. Ils ont été positionnés en décubitus latéral droit. Les pattes ont été tirées en arrière pour éviter la superposition avec la cavité cœlomique, et les ailes ont été relevées dorsalement pour la même raison. Les clichés étaient de type argentique.

Une radiographie était considérée comme interprétable si les critères suivants étaient remplis :

- Les têtes fémorales étaient superposées (pas de rotation),
- Toute la cavité cœlomique était visible,
- Le contraste, la densité et la netteté étaient corrects.

Aucune procédure de jeun n'a été mise en place, l'absorption ou non de nourriture avant la radiographie n'était donc pas connue.

1.1.2. Mesures réalisées sur les clichés radiographiques et rapports de dimensions utilisés

Nous allons maintenant présenter les dimensions qui ont été mesurées sur les clichés radiographiques et qui sont illustrées Figure 8.

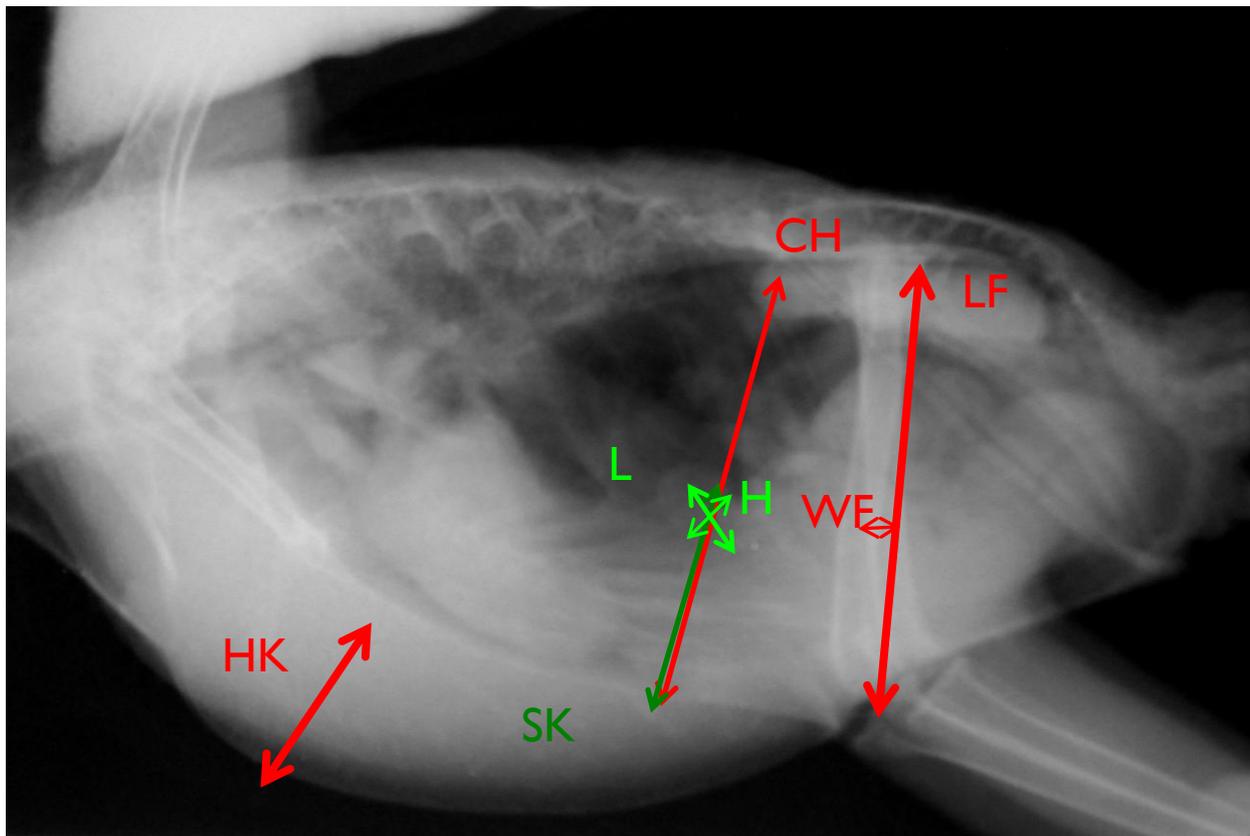
D'abord deux dimensions de la rate ont été mesurées :

- Longueur maximale de la rate (L)
- Hauteur maximale de la rate (H) (perpendiculairement à L)

Puis cinq autres dimensions appelées « dimensions de référence » ont été mesurées :

- Hauteur dorso-ventrale maximale du bréchet perpendiculaire à la carène ventrale du bréchet (HK)
- Hauteur maximale de la cavité coelomique en passant par le centre de la rate (CH), perpendiculairement à la surface du bréchet (bord dorsal du sternum/bord ventral des vertèbres)
- Distance entre le bord dorsal de la rate et le bord dorsal du sternum en passant perpendiculairement à la surface du bréchet (SK) et par l'intersection entre L et H
- Longueur du fémur droit (LF), donc celui qui apparaît le plus crânial sur la radiographie (nous rappelons que le fémur droit est placé par convention plus cranialement lors de la prise du cliché), depuis le bord dorsal de la tête fémorale jusqu'à l'extrémité des condyles
- Largeur du fémur droit (WF)

Figure 8. Représentation des dimensions qui ont été mesurées pour notre protocole



Puis les rapports entre les dimensions de la rate (L et H) et chacune des dimensions de référence (HK, CH, SK, LF et WF) ont été calculés : L/HK , L/CH , L/SK , L/LF , L/WF , H/HK , H/CH , H/SK , H/LF et H/WF .

Il a été décidé d'utiliser des rapports de dimensions plutôt que des valeurs absolues afin de pallier les différences de taille entre chaque individu et la technique radiographique.

Les mesures ont d'abord été effectuées par le Docteur Huynh, que nous appellerons « opérateur expert » puis par l'auteur de cette thèse (que nous appellerons « opérateur novice »), avec une règle. Les résultats ont été exprimés en millimètres.

Les deux opérateurs ne connaissaient pas le statut de l'oiseau (groupe témoin, chlamydophilose ou leucocytose) lors des mesures, afin d'éliminer une erreur de classement différentielle par la suite.

1.1.3. Evaluation de la concordance entre les séries de mesures des deux opérateurs

Comme les distributions des mesures effectuées sur les radiographies ne suivaient pas une loi normale, nous avons comparé les médianes, puis nous les avons testées à l'aide du test de Wilcoxon.

1.1.3.1 Méthodes numériques : le coefficient de concordance de Lin et le coefficient de corrélation de Pearson

Nous rappelons que l'objectif de ce travail était entre autre de savoir si le protocole de lecture des dimensions de la rate du Gris du Gabon permettait d'obtenir des dimensions reproductibles entre deux opérateurs. Parmi toutes les dimensions mesurées, l'objectif était de choisir un rapport de dimensions qui intégrait la dimension de la rate la plus reproductible (H ou L), avec la dimension de référence la plus reproductible (SK, HK, CH, LF ou WF).

D'après l'opérateur expert, la rate était visible de façon satisfaisante sur 64 clichés. D'après l'opérateur novice, elle l'était sur 68 clichés. Après avoir regroupé les données des deux opérateurs, il y avait 60 clichés mesurés en commun. C'est sur cet échantillon de 60 clichés que nous avons effectué notre analyse de concordance.

Nous avons utilisé deux méthodes numériques paramétriques pour estimer la concordance entre nos deux séries de mesures : le coefficient de concordance de Lin et le coefficient de corrélation de Pearson (DESQUILBET, 2013).

Le coefficient de concordance de Lin (tout comme le coefficient de corrélation de Pearson) est un coefficient allant de -1 à +1, où les valeurs de -1, 0, et +1 signifient respectivement une discordance parfaite, une concordance nulle, et une concordance parfaite (DESQUILBET, 2013). L'interprétation de la valeur du coefficient de concordance de Lin se trouve dans le Tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1. Interprétation de la valeur du coefficient de concordance de Lin

Valeur du coefficient de concordance de Lin	Interprétation pour la concordance
< 0,50	Inacceptable
0,51-0,60	Mauvais
0,61-0,70	Passable
0,71-0,80	Moyennement satisfaisant
0,81-0,90	Plutôt bon
0,91-0,95	Très bonne
> 0,95	Excellente

Le coefficient de corrélation de Pearson ne prend pas en compte le fait qu'une série de mesures soit surestimée ou sous estimée par rapport à l'autre, contrairement au coefficient de concordance de Lin (DESQUILBET, 2013).

1.1.3.2. Méthode graphique : les courbes de Bland et Altman

En plus de la méthode numérique, nous l'avons complétée avec une méthode graphique de représentation de la concordance : le graphique de Bland et Altman. Celle-ci est complémentaire à la méthode numérique dans la mesure où elle peut permettre de nuancer, ou bien au contraire de confirmer le niveau de concordance quantifié par la méthode numérique (DESQUILBET, 2013). Ce graphique permet en effet de fournir une indication de la façon dont les données sont peu ou pas concordantes. Il est particulièrement intéressant lorsque le coefficient de concordance de Lin est inférieur à 0,91.

Ce graphique comporte trois éléments :

- Les mesures effectuées par les deux opérateurs dont on souhaite savoir si elles sont concordantes ou pas
- Trois droites horizontales : le biais moyen (ou écart systématique moyen entre les deux séries de mesures), et les limites d'agrément qui représentent une zone dans laquelle on retrouve en moyenne 95% des écarts entre la valeur de la dimension mesurée par l'opérateur expert et celle mesurée par l'opérateur novice
- Les intervalles de confiance à 95% de ces 3 droites (sous forme de droites aussi)

Avant d'utiliser la méthode graphique de Bland et Altman, il est absolument indispensable d'avoir une idée des valeurs X et Y dans la phrase suivante : « nous avons considéré que les deux séries de

mesures donnaient des valeurs concordantes si (1) la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de X (critère 1), et si (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à Y (en valeur absolue ; critère 2) ».

Les valeurs de ces critères ont été choisies subjectivement pour chaque rapport de dimensions. Nous avons accepté 5% d'erreur (à partir de la valeur de la médiane de la dimension) pour le critère 1, et 10% d'erreur pour le critère 2. Les valeurs de ces critères sont regroupées dans le Tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2. Valeurs seuils choisies pour les différentes dimensions mesurées

	H	L	HK	CH	SK	LF	WF
X (en mm)	0,5	0,5	1,0	2,5	1,5	2,0	0,25
Y (en mm)	1,0	1,0	2,0	5,0	2,5	4,0	0,5

X : valeur seuil pour le premier critère de concordance

Y : valeur seuil pour le deuxième critère de concordance

Une fois le protocole de mesure validé, nous allons à présent nous intéresser à ses applications afin de répondre aux objectifs de notre étude.

1.2. Application du protocole de mesure aux objectifs de l'étude

1.2.1. Sélection de la population d'étude

L'étude comportait 92 clichés radiographiques de Gris du Gabon qui ont été pris entre 2008 et 2010 à la clinique de Swindon en Angleterre.

Pour chaque perroquet entré dans l'étude, l'âge, le poids, le motif de consultation, la numération-formule sanguine (NFS) complète, l'hématocrite et un test sérologique de la chlamydia ont été relevés dans la mesure du possible.

1.2.2. Les trois groupes d'étude

Trois groupes ont été formés pour répondre aux objectifs de l'étude : le groupe chlamyophilose, le groupe leucocytose et le groupe témoin.

- Pour le groupe chlamyophilose (n=47), nous avons utilisé un test rapide semi-quantitatif ELISA Immunocomb® détectant les anticorps anti-Chlamyphila psittaci à partir d'un échantillon de sérum ou de plasma. L'intensité de la couleur de la bandelette permettait d'estimer la quantité d'anticorps dans le sérum ou le plasma testé. A l'intensité de la couleur correspondait un résultat allant de 0 (couleur identique au témoin négatif) à 4 (couleur beaucoup plus foncée que celle du témoin négatif). Un oiseau testé avait un statut chlamyophilose positif lorsque le résultat du test était supérieur ou égal à 3.

- Le groupe leucocytose (n=57) regroupait les perroquets dont la numération leucocytaire était supérieure à 10.10^3 cellules/ μ L. La NFS a été réalisée à partir d'un échantillon de sang prélevé sur tube EDTA puis placé sur lame à chambre de Neubauer avant d'être coloré par une solution de Rees & Ecker.

- Enfin pour le groupe témoin (n=18), les oiseaux devaient avoir une NFS et un hémocrite dans les normes : leucocytes $< 10.10^3$ cellule/ μ L et hémocrite compris entre 38% et 60%. Ils devaient également avoir un statut négatif au test chlamyophilose (indiqué comme ≤ 2 d'après le test) et aucun symptôme évocateur d'une quelconque maladie. Les oiseaux non testés pour la chlamyophilose ne pouvaient pas faire partie du groupe témoin, même s'ils respectaient les autres critères.

Il a été décidé d'inclure dans le groupe témoin les individus présentés en consultation pour un bilan de santé mais avec un hémocrite jusqu'à 35% (35% compris) s'ils ne présentaient aucun symptôme évocateur d'une quelconque maladie, si leur formule leucocytaire était normale et s'ils étaient testés chlamyophilose négatif. Il faut en effet savoir que la mesure de l'hémocrite est peu précise.

1.2.3. Test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyophilose ou d'une leucocytose

Pour étudier l'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyophilose ou d'une leucocytose, les médianes de tous les rapports de dimensions ont été comparées entre les groupes (Chlamyophilose + versus Chlamyophilose -, et Leucocytose + versus Leucocytose-) en calculant l'écart absolu (c'est-à-dire une simple différence) puis l'écart relatif (c'est-à-dire en divisant l'écart absolu par la valeur de la médiane du rapport de dimensions du groupe chlamyophilose - ou leucocytose -). Les rapports de dimensions discriminaient d'autant mieux les groupes (Chlamyophilose + versus Chlamyophilose -, ou Leucocytose + versus Leucocytose -) que leur écart relatif (entre les groupes) était important.

Dans la mesure où dix rapports de dimensions ont été testés pour chacune des deux séries de mesures, il a fallu corriger le risque d'erreur de première espèce pour prendre en compte cette situation de tests multiples. Pour cela, nous avons utilisé la correction de Bonferroni, qui consiste à diviser le risque d'erreur de première espèce (fixé à 0,05) par le nombre de tests effectués (n=10), ce qui conduit à un nouveau risque d'erreur de première espèce à 0,005. Par conséquent, pour conclure à une association significative entre la présence de chlamyophilose et le rapport de dimensions tout en respectant un risque d'erreur global de 5%, il fallait donc que la valeur du « p » de chacun des tests statistiques correspondants soit inférieure à 0,005.

Pour le test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyophilose, on a dénombré 6 individus positifs pour le test ELISA. Ces individus étaient donc considérés comme atteints de chlamyophilose. Parmi ceux qui ne présentaient pas de chlamyophilose (n=41, Chlamyophilose -), on comptait :

- Les oiseaux qui présentaient une leucocytose (n=12)
- Les oiseaux du groupe témoin (n=18)
- Les oiseaux qui n'appartenaient à aucun de ces trois groupes : pas de valeur d'hématocrite et/ou de NFS (n=4), hématocrite trop bas (n=2) ou motif de consultation qui excluait l'oiseau du groupe témoin (n=5)

Enfin pour le test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence d'une leucocytose, nous avons relevé que parmi les oiseaux qui présentaient une leucocytose (Leucocytose +, n=24), il y en avait 5 qui appartenaient également au groupe

chlamyophilose, et parmi ceux qui ne présentaient pas de leucocytose (Leucocytose -, n=33), on comptait :

- 1 individu appartenant au groupe chlamyophilose
- Les 18 témoins
- Ceux qui n'appartenaient à aucun de ces trois groupes :
 - o 1 qui n'a pas eu d'hématocrite
 - o 2 dont l'hématocrite était trop bas
 - o 6 qui n'ont pas été testés pour la chlamyophilose
 - o 5 qui présentaient une autre affection

On comptait 3 oiseaux sur les 60 de l'étude qui n'ont pas eu de NFS. Ils n'ont pas été inclus dans les calculs avec les oiseaux considérés comme indemnes de leucocytose.

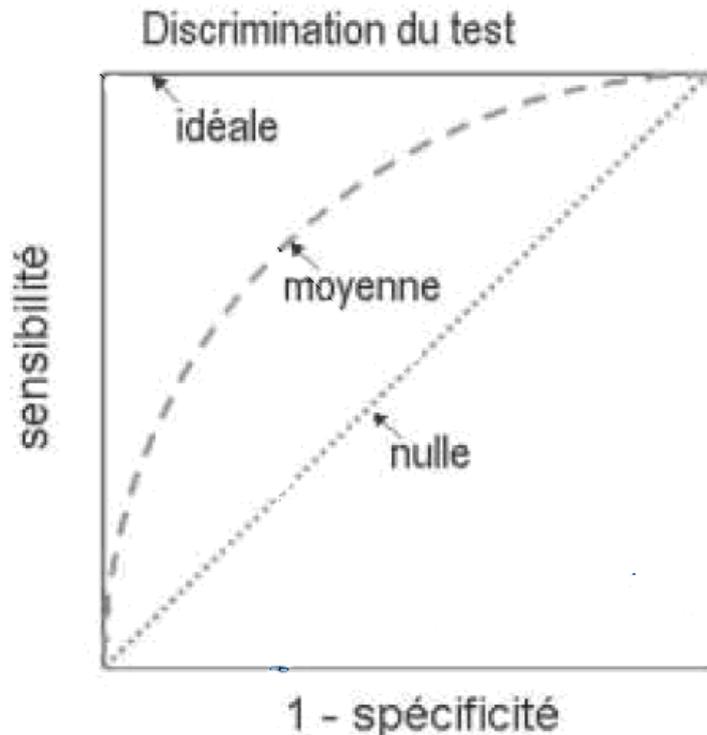
Nous avons donc dans cette partie une population de 57 oiseaux au total, avec 24 individus qui appartenaient au groupe leucocytose.

1.2.4. Quantification du pouvoir discriminant des rapports de dimensions entre les oiseaux atteints de chlamyophilose et les autres : Courbes ROC

Nous avons par la suite regardé si parmi les rapports de dimensions discriminant le mieux les individus du groupe chlamyophilose des autres, il y en avait un pouvant être un bon indicateur de la présence de chlamyophilose. Pour cela nous avons réalisé des courbes ROC (« receiver operating characteristic »).

Ces courbes représentent en ordonnée la proportion de tests positifs parmi la population malade (la sensibilité) en fonction de la proportion de tests positifs parmi la population non malade (c'est-à-dire 1- spécificité), en abscisse pour toutes les valeurs seuil envisageables du test. Pour un test qui discriminerait parfaitement les malades des sains, il est possible de trouver une valeur seuil ayant une sensibilité et une spécificité de 100%, qui correspond au coin supérieur gauche du graphique (Figure 9). Dans ce cas la courbe ROC longe l'axe des ordonnées et le haut du graphique. En revanche si le test a une capacité de discrimination nulle, la proportion de positifs parmi les malades sera égale à la proportion de positifs parmi les sains, quelle que soit la valeur seuil. Dans ce cas la courbe ROC est une courbe à 45° (Figure 9). Le test est donc d'autant meilleur que sa courbe ROC se rapproche du coin supérieur gauche du graphique (PERNEGER et PERRIER, 2004).

Figure 9. Courbes ROC pour des tests ayant une capacité de discrimination idéale, moyenne ou nulle (PERNEGER et PERRIER, 2004)



L'aire sous la courbe est une donnée intéressante à regarder afin de déterminer la valeur discriminante du test. Si le test est parfait, l'aire sous sa courbe vaudra 1, si le test n'a aucune valeur discriminante, l'aire vaudra 0,5. Tous les intermédiaires sont donc possibles entre ces deux valeurs. Dans notre étude, cette aire correspond à la probabilité que l'indicateur étudié (un rapport de dimensions) soit plus élevé chez les oiseaux atteints de chlamyophilose que chez les autres.

1.2.5. Vérification de l'affirmation de EVANS (2008) a propos du diamètre physiologique de la rate et de la fréquence à laquelle la rate est visible sur une radiographie de Gris du Gabon

Un auteur (EVANS, 2008) rapporte que le diamètre de la rate doit physiologiquement être inférieur à une fois et demi la largeur du fémur. Nous avons donc regardé si cette affirmation se vérifiait dans notre groupe témoin (avec ma série de mesures), en prenant L ou H comme dimension de la rate, car cet auteur n'avait pas précisé s'il fallait mesurer la hauteur ou la longueur de la rate (EVANS, 2008).

Nous avons calculé les médianes des valeurs de H, L et 1,5 fois WF dans notre groupe témoin, que nous avons ensuite comparés.

D'autre part, la littérature indique que sur des radiographies de Gris du Gabon, la rate est visible en incidence latérale dans un tiers des cas (KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011). Nous avons donc calculé la fréquence à laquelle la rate était visible pour l'opérateur expert et pour l'opérateur novice afin de comparer nos résultats à ceux de la littérature.

2. Résultats

2.1. Evaluation de la concordance entre les séries de mesures des deux opérateurs

2.1.1. Méthodes numériques : le coefficient de concordance de Lin et le coefficient de corrélation de Pearson

Le Tableau 3 présente les médianes des dimensions mesurées par les deux opérateurs.

Tableau 3. Médianes (n=60) avec premier et troisième quartiles des dimensions mesurées par les deux opérateurs.

Dimension	L		H		HK	
	Op_nov	Op_exp	Op_nov	Op_exp	Op_nov	Op_exp
Médiane (mm)	9,0	8,0	8,0	9,0	22,0	22,0
	[8,0-10,0]	[7,0-9,0]	[6,8-9,0]	[7,0-10,0]	[21,0-23,0]	[22,0-23,0]

Op_nov : Opérateur novice

Op_exp : opérateur expert

Dimension	SK		CH		LF		WF	
	Op_nov	Op_exp	Op_nov	Op_exp	Op_nov	Op_exp	Op_nov	Op_exp
Médiane (mm)	28,0	29,0	50,0	51,0	49,3	49,5	4,0	4,0
	[26,0-30,0]	[26,0-30,5]	[48,0-52,3]	[48,0-53,0]	[47,8-50,3]	[48,0-50,0]	[3,5-4,0]	[4,0-4,0]

Op_nov : Opérateur novice

Op_exp : opérateur expert

Le Tableau 4 présente les médianes des dimensions mesurées pour les groupes chlamyophilose, leucocytose et témoin, ainsi que les médianes de leur poids (en grammes) et de leur âge (en années).

Tableau 4. Médianes avec premier et troisième quartiles des dimensions mesurées par l'opérateur novice des groupes chlamyophilose, leucocytose et témoin.

	Leucocytose + Médiane [IQR] (n=24)	Chlamyophilose + Médiane [IQR] (n=6)	Témoins Médiane [IQR] (n=18)
L	9,0 [7,3-9,5]	9,8 [9,5-11,0]	9,8 [9,0-10,0]
H	7,8 [6,5-9,8]	9,3 [9,0-10,0]	8,5 [7,0-9,0]
HK	21,5 [20,5-23,0]	21,8 [21,0-22,0]	22,0 [21,0-22,5]
SK	28,0 [26,3-31,0]	30,0 [28,0-33,5]	28,0 [26,0-31,0]
CH	48,5 [47,8-51,8]	49,5 [49,0-52,0]	51,75 [49,0-53,0]
LF	49,0 [47,0-50,5]	49,0 [47,0-51,0]	49,5 [48,0-51,0]
WF	4,0 [3,5-4,0]	3,5 [3,5-4,0]	4,0 [3,5-4,0]
Age (années)	3,0 [1,0-5,0]	1,5 [1,0-3,0]	4,0 [3,0-9,0]
Poids (grammes)	411 [365-450]	450 [350-450]	460 [440-480]

IQR, distance interquartile

Le Tableau 5 présente les médianes des rapports de dimensions mesurées.

Tableau 5. Médianes des rapports de dimensions mesurées par l'opérateur novice avec leurs premier et troisième quartiles

	Médiane [IQR] (n=60)
L/HK	0,42 [0,35-0,46]
L/CH	0,18 [0,16-0,20]
L/SK	0,33 [0,29-0,35]
L/LF	0,19 [0,16-0,20]
L/WF	2,29 [2,00-2,71]
H/HK	0,36 [0,30-0,43]
H/CH	0,15 [0,13-0,19]
H/SK	0,28 [0,25-0,31]
H/LF	0,16 [0,14-0,19]
H/WF	3,29 [2,91-3,80]

IQR, distance interquartile

Le Tableau 6 présente le classement par ordre décroissant des coefficients de concordance de Lin avec leurs intervalles de confiance, l'interprétation de leur valeur ainsi que les coefficients de corrélation de Pearson entre les dimensions mesurées par les deux opérateurs.

Tableau 6. Concordance entre les dimensions mesurées par les deux opérateurs (n=60)

	Coefficient de concordance de Lin [IC]	Coefficient de corrélation de Pearson	Interprétation de la valeur du coefficient de concordance de Lin
LF	0,90 [0,86-0,94]	0,92	Plutôt bon
SK	0,87 [0,81-0,93]	0,90	Plutôt bon
CH	0,86 [0,80-0,92]	0,90	Plutôt bon
HK	0,63 [0,50-0,76]	0,71	Passable
H	0,61 [0,47-0,75]	0,69	Passable
L	0,56 [0,41-0,71]	0,66	Mauvais
WF	0,55 [0,39-0,71]	0,60	Mauvais

IC, intervalle de confiance

Nous voyons ici que le classement des dimensions mesurées selon leur concordance aurait été le même que nous avons utilisé le coefficient de corrélation de Pearson ou le coefficient de concordance de Lin.

Parmi les dimensions de la rate (la hauteur H et la longueur L), c'était H qui possédait le coefficient de concordance de Lin (ainsi que le coefficient de corrélation de Pearson) le plus élevé. Cependant son coefficient de concordance de Lin de 0,61 ne le classait que dans la catégorie « passable ».

C'est LF, c'est-à-dire la longueur du fémur, qui possédait le coefficient de concordance de Lin (ainsi que le coefficient de corrélation de Pearson) le plus élevé parmi toutes les dimensions de référence. Il était de 0,90, donc considéré comme plutôt bon pour le coefficient de concordance de Lin ; et il était de 0,92 pour le coefficient de corrélation de Pearson, donc il aurait été considéré comme très bon s'il n'y avait pas eu de surestimation (cf infra, Courbes de Bland et Altman).

Les deux dimensions SK et CH, avaient également un coefficient de concordance de Lin considéré comme plutôt bon (respectivement 0,87 et 0,86), même s'ils étaient légèrement inférieurs à celui de LF.

La hauteur du bréchet HK possédait un coefficient de concordance de Lin de 0,63, ce qui est considéré comme passable ; mais son coefficient de corrélation de Pearson est de 0,71, ce qui l'aurait classé comme moyennement satisfaisant s'il n'y avait pas eu de surestimation (cf infra, Courbes de Bland et Altman).

Les coefficients de concordance de Lin et de corrélation de Pearson étaient très faibles pour la largeur du fémur WF (respectivement de 0,55 et 0,60). Ils étaient tous les deux considérés comme mauvais.

Conclusion pour la concordance entre les deux séries de mesures avec les méthodes numériques.

Parmi les deux dimensions de la rate, il semblait donc que la mesure de la hauteur H présentait une meilleure concordance que celle de la longueur L.

Parmi les dimensions de référence (CH, SK, HK, LF et WF), c'était LF qui présentait le meilleur coefficient de concordance de Lin. Ce coefficient était considéré comme plutôt bon. Puis venait par ordre décroissant les dimensions SK et CH, également considérés comme plutôt bons.

Le classement des dimensions selon leur concordance était le même avec les coefficients de corrélation de Pearson.

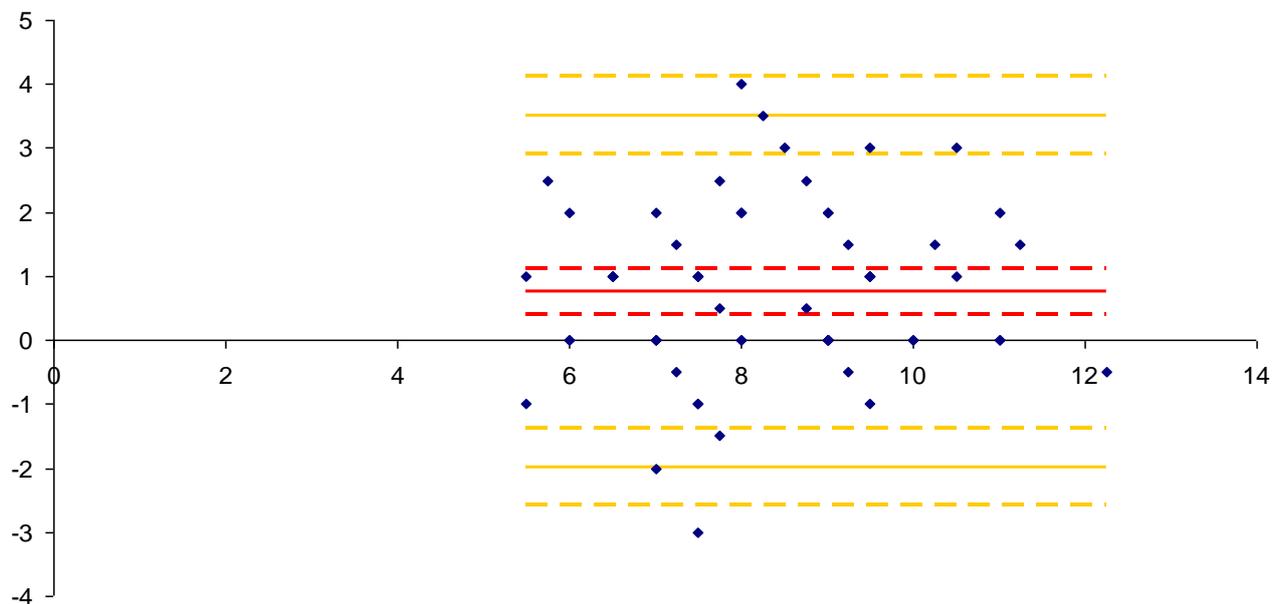
2.1.2. Méthode graphique : les courbes de Bland et Altman

2.1.2.1. Courbes de Bland et Altman pour les dimensions de la rate : H et L

Nous avons considéré que les deux séries de mesures donnaient des valeurs concordantes pour la mesure de H et de L si (1) la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 0,5 mm, et si (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 1 mm, en valeur absolue (Tableau 2).

Les courbes de Bland et Altman pour la mesure de H sont présentées Figure 10.

Figure 10. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de H (n=60)



Biais moyen [IC _{95%}]	0,77 [0,42 ; 1,12]
Borne 95% inférieure d'agrément [IC _{95%}]	-1,98 [-2,58 ; -1,38]
Borne 95% supérieure d'agrément [IC _{95%}]	3,51 [2,91 ; 4,11]

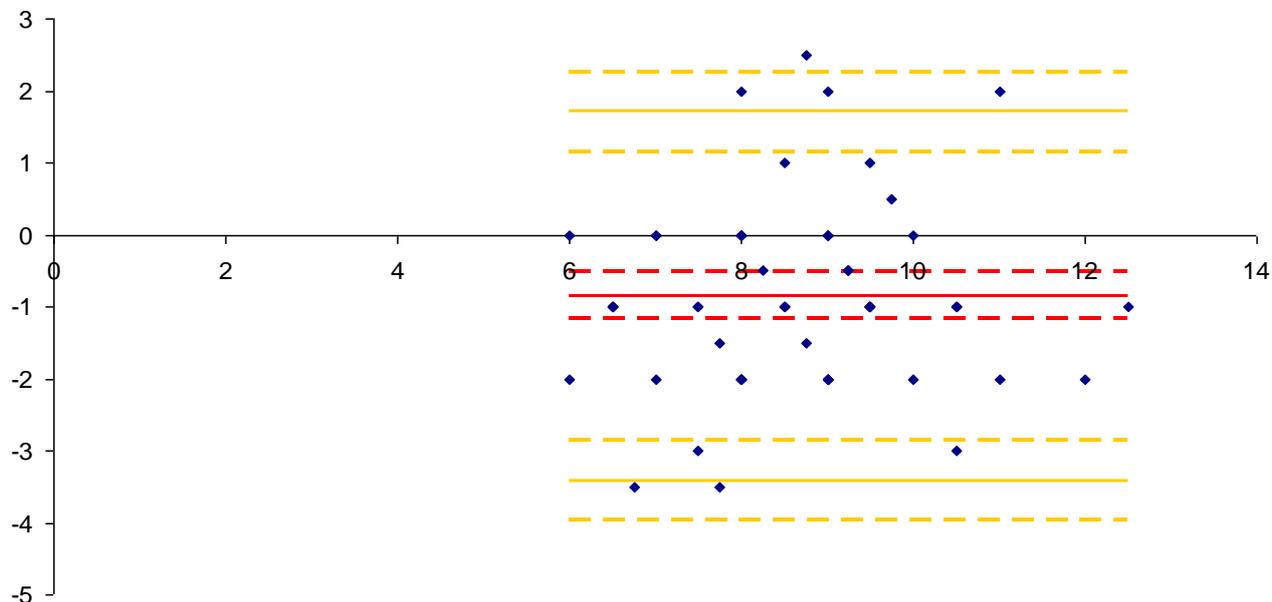
IC_{95%}, Intervalle de confiance à 95%

Pour H, le biais moyen était donc de 0,77 mm. Or, nous avons considéré qu'un écart systématique de plus de 0,5 mm (valeur seuil du premier critère de concordance, en valeur absolue) n'était pas acceptable. On a donc considéré que le premier critère de concordance entre les deux séries de mesures n'était pas respecté.

Notre second critère de concordance (« la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 1 mm, en valeur absolue »), n'était pas respecté non plus car la limite supérieure d'agrément était de 3,51 mm et la limite inférieure de -1,98 mm (toutes deux supérieures à 1 mm).

La Figure 11 présente les courbes de Bland et Altman pour la longueur de la rate L.

Figure 11. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de L (n=60)



Biais moyen (en mm)	-0,85 [-1,18 ; -0,52]
[IC _{95%}]	
Borne 95% inférieure d'agrément (en mm)	-3,41 [-3,97 ; -2,85]
[IC _{95%}]	
Borne 95% supérieure d'agrément (en mm)	1,71 [1,15 ; 2,27]
[IC _{95%}]	

IC_{95%}, intervalle de confiance à 95%

Pour L, le biais moyen était donc de -0,85 mm. Or, nous avons considéré qu'un écart systématique (en valeur absolue) de plus de 0,5 mm n'était pas acceptable (valeur seuil du premier critère de concordance). On a donc considéré que le premier critère de concordance entre les deux séries de mesures n'était pas respecté.

Notre second critère de concordance (« la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 1 mm, en valeur absolue »), n'était pas respecté non plus car la limite supérieure d'agrément était de 1,71 mm et la limite inférieure de -3,41 mm.

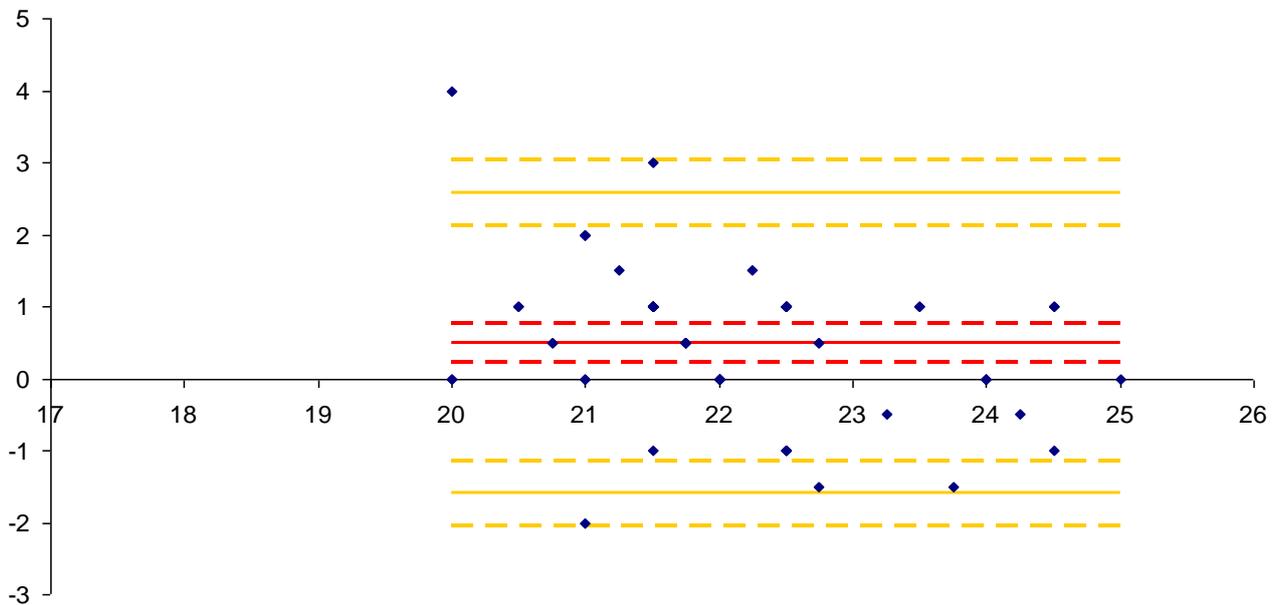
Les dimensions de la rate H et L n'étaient donc pas des mesures reproductibles entre les deux opérateurs d'après les critères de concordance que nous nous étions fixés pour la méthode graphique (Tableau 2).

2.1.2.2. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : HK

Nous avons considéré que les deux séries de mesures donnaient des valeurs concordantes pour la mesure de HK si (1) la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 1 mm, et si (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 2 mm, en valeur absolue (Tableau 2).

La Figure 12 présente les courbes de Bland et Altman pour la mesure de HK.

Figure 12. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de HK (n=60)



Biais moyen (en mm) [IC _{95%}]	0,49 [0,22 ; 0,76]
--	--------------------

Borne 95% inférieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	-1,60 [-2,05 ; -1,14]
--	-----------------------

Borne 95% supérieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	2,58 [2,12 ; 3,04]
--	--------------------

IC_{95%}, intervalle de confiance à 95%

Nous avons donc un biais moyen de 0,49 mm pour HK, avec un intervalle de confiance à 95% qui valait [0,22 ; 0,76]. Par conséquent, le premier critère de concordance « la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait pas ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 1 mm » était respecté puisque nous avons un écart systématique (« biais moyen ») de 0,49 mm.

La limite inférieure d'agrément était de -1,60 mm, donc inférieure, mais quoique proche de la limite que l'on s'était fixée pour le second critère de concordance (2 mm en valeur absolue). En revanche,

la limite supérieure d'agrément était de 2,58 mm, ce qui était supérieur à la valeur limite que nous nous étions fixés pour notre second critère de concordance (2 mm), celui-ci n'était donc pas respecté.

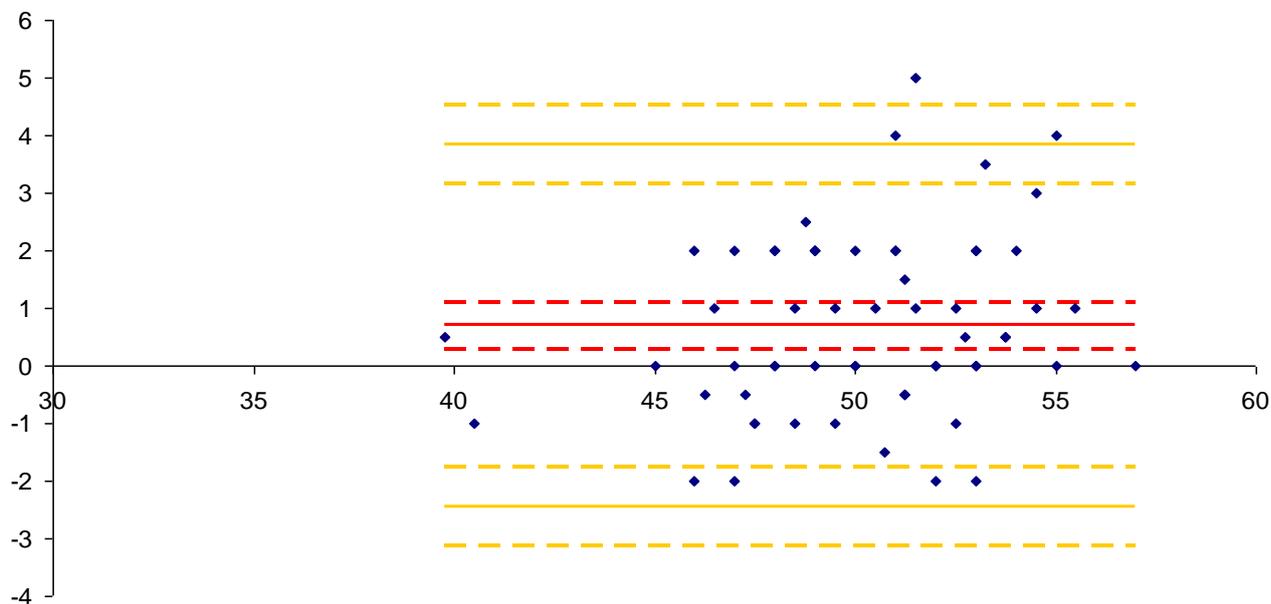
Pour la dimension HK, le premier critère de concordance était donc respecté, mais pas le deuxième.

2.1.2.3. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : CH

Nous avons considéré que les deux séries de mesures donnaient des valeurs concordantes pour la mesure de CH si (1) la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 2,5 mm, et si (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 5 mm, en valeur absolue (Tableau 2).

La Figure 13 présente les courbes de Bland et Altman pour la mesure de CH.

Figure 13. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de CH (n=60)



Biais moyen (en mm) [IC _{95%}]	0,70 [0,30 ; 1,10]
Borne 95% inférieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	-2,45 [-3,14 ; -1,76]
Borne 95% supérieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	3,85 [3,16 ; 4,54]
IC _{95%} , intervalle de confiance à 95%	

Le biais moyen était donc de 0,70 mm pour CH, et son intervalle de confiance à 95% était [0,30 ; 1,10]. Par conséquent, le premier critère de concordance « la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimaient pas ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 2,5 mm » était respecté puisque nous avons un écart systématique (« biais moyen ») de 0,70 mm.

Les limites supérieure et inférieure d'agrément, qui étaient de 3,85 mm et -2,45 mm, respectaient le deuxième critère de concordance « la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des mesures était inférieure à 5 mm, en valeur absolue ».

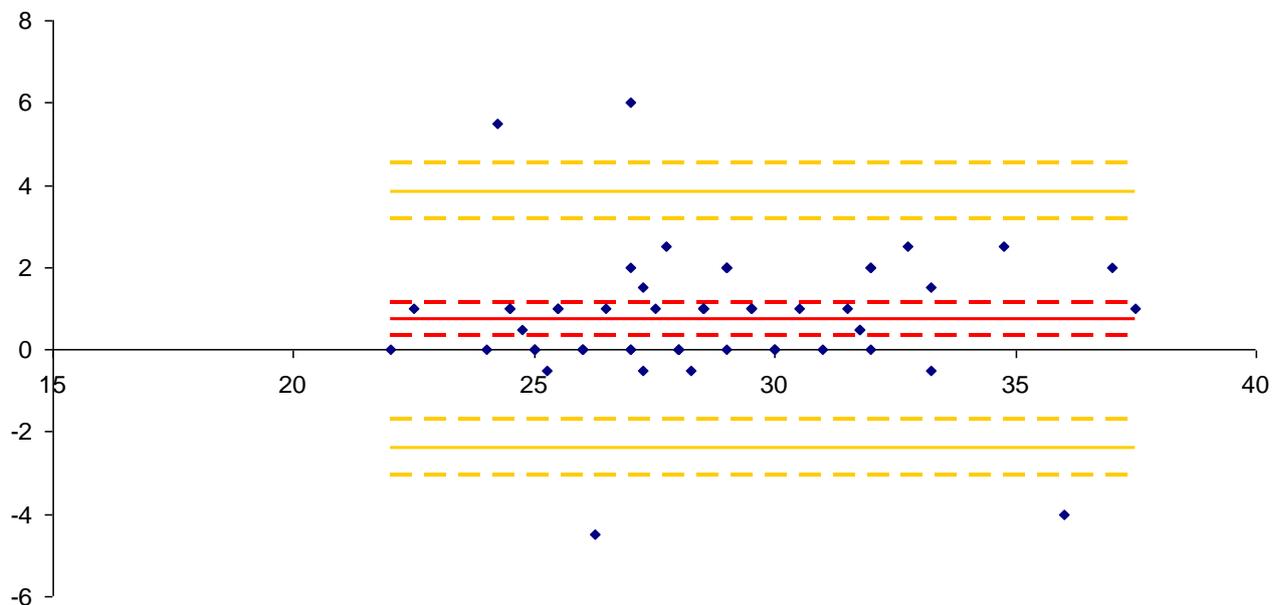
Les critères de concordance que nous nous étions fixé pour la mesure de CH étaient donc tous les deux respectés.

2.1.2.4. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : SK

Nous avons considéré que les deux séries de mesures donnaient des valeurs concordantes pour la mesure de SK si (1) la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 1,5 mm, et si (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 2,5 mm, en valeur absolue (Tableau 2).

La Figure 14 présente les courbes de Bland et Altman pour la mesure de SK.

Figure 14. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de SK (n=60)



Biais moyen (en mm) [IC _{95%}]	0,73 [0,34 ; 1,13]
--	--------------------

Borne 95% inférieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	-2,38 [-3,06 ; -1,70]
--	-----------------------

Borne 95% supérieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	3,84 [3,16 ; 4,52]
--	--------------------

IC_{95%}, intervalle de confiance à 95%

Le biais moyen était donc de 0,73 mm pour SK, et son intervalle de confiance à 95% était [0,34 ; 1,13]. Par conséquent, le premier critère de concordance « la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celles de l'opérateur expert de plus de 1,5 mm » était respecté puisque nous avons un écart systématique (« biais moyen ») de 0,73 mm.

La limite inférieure d'agrément était de -2,38 mm, ce qui était inférieur, mais quoique proche de la limite que l'on s'était fixée pour le second critère de concordance (2,5 mm en valeur absolue). La limite supérieure d'agrément était de 3,84 mm, ce qui est bien au-delà de la valeur seuil du second critère de concordance (2,5 mm en valeur absolue). Le second critère de concordance n'était donc pas respecté.

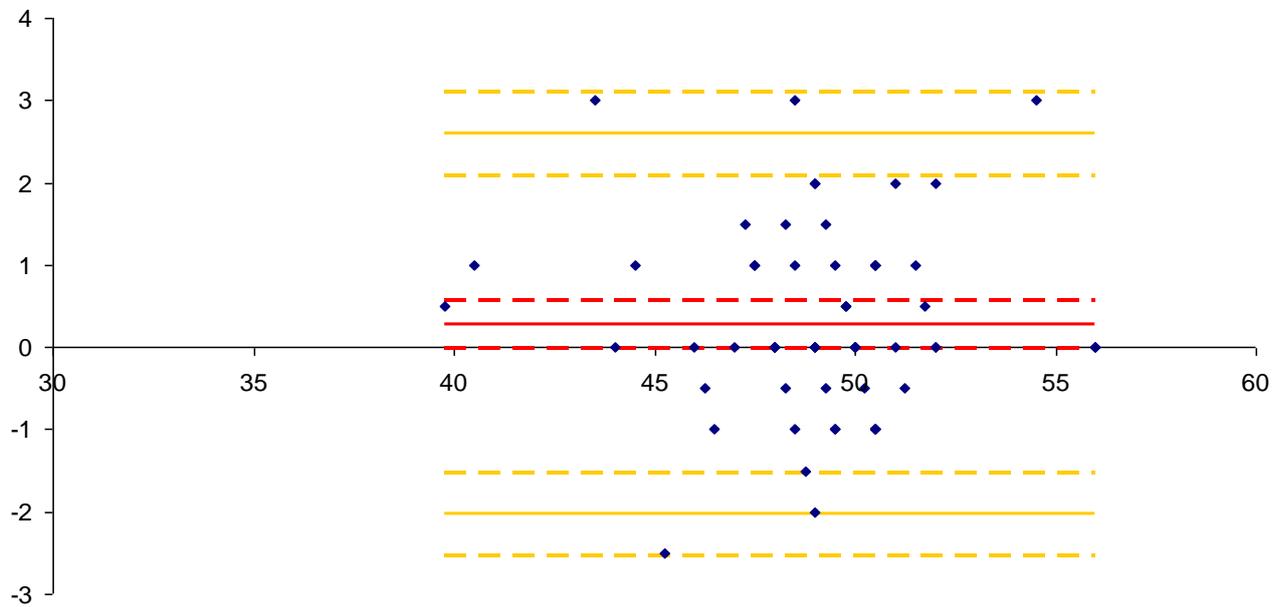
Pour la dimension SK, le premier critère de concordance était donc respecté, mais pas le deuxième.

2.1.2.5. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : LF

Nous avons considéré que les deux séries de mesures donnaient des valeurs concordantes pour la mesure de LF si (1) la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 2 mm, et si (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 4 mm, en valeur absolue (Tableau 2).

La Figure 15 présente les courbes de Bland et Altman pour la mesure de LF.

Figure 15. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de LF (n=60)



Biais moyen (en mm) [IC _{95%}]	0,28 [-0,01 ; 0,58]
Borne 95% inférieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	-2,03 [-2,54 ; -1,52]
Borne 95% supérieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	2,60 [2,09 ; 3,11]
IC _{95%} , intervalle de confiance à 95%	

Le biais moyen était donc de 0,28 mm pour LF, et son intervalle de confiance à 95% était [-0,01 ; 0,58]. Par conséquent, le premier critère de concordance « la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 2 mm » était respecté puisque nous avons un écart systématique (« biais moyen ») de 0,28 mm.

Les limites supérieure et inférieure d'agrément, qui étaient de 2,60 mm et -2,03 mm, respectaient le deuxième critère de concordance « la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des mesures était inférieure à 4 mm, en valeur absolue ».

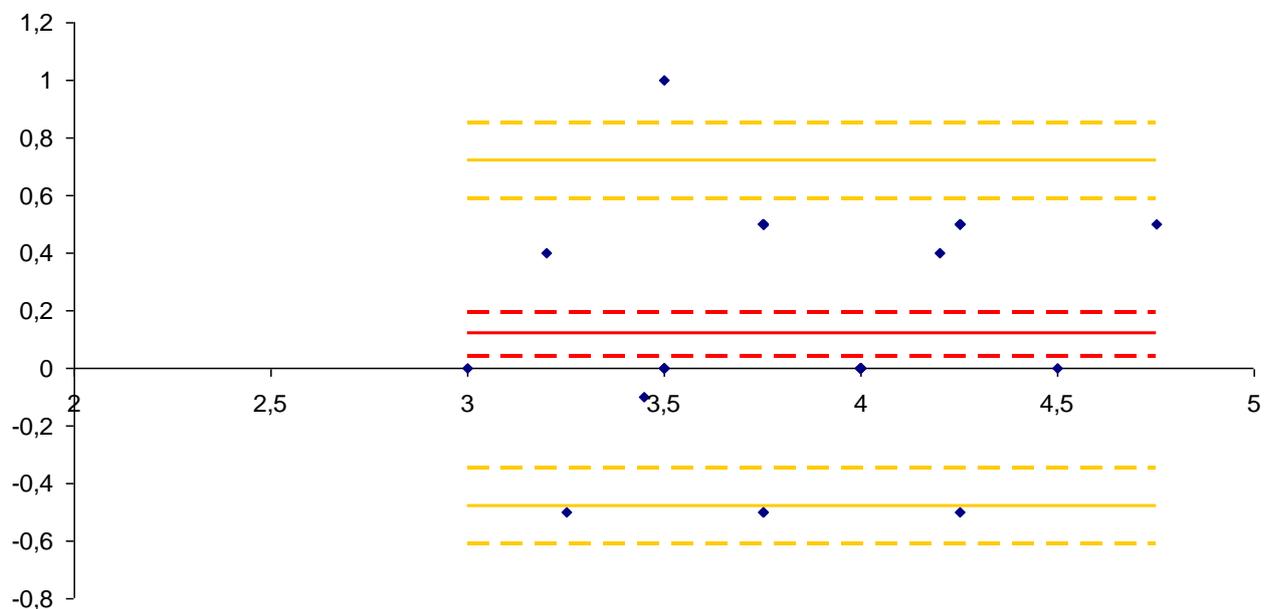
Les critères de concordance que nous nous étions fixé pour la mesure de LF étaient donc tous les deux respectés.

2.1.2.6. Courbes de Bland et Altman pour une des dimensions de référence de la rate : WF

Nous avons considéré que les deux séries de mesures donnaient des valeurs concordantes pour la mesure de WF si (1) la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 0,25 mm, et si (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 0,5 mm, en valeur absolue (Tableau 2).

La Figure 16 présente les courbes de Bland et Altman pour la mesure de WF.

Figure 16. Courbes de Bland et Altman pour la mesure de WF (n=60)



Biais moyen (en mm) [IC _{95%}]	0,12 [0,04 ; 0,20]
Borne 95% inférieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	-0,48 [-0,61 ; -0,35]
Borne 95% supérieure d'agrément (en mm) [IC _{95%}]	0,72 [0,59 ; 0,85]
IC _{95%} , intervalle de confiance à 95%	

Le biais moyen était donc de 0,12 mm pour WF, et son intervalle de confiance à 95% était [0,04 ; 0,20]. Par conséquent, le premier critère de concordance « la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 0,25 mm » était respecté puisque nous avons un écart systématique (« biais moyen ») de 0,12 mm.

La limite inférieure d'agrément était égale à -0,48 mm, donc très proche, tout en restant inférieure, de la valeur seuil fixée de 0,5 mm (en valeur absolue). La valeur de la limite supérieure d'agrément (0,72 mm) était supérieure à la valeur seuil (0,5 mm en valeur absolue) que nous nous étions fixés pour le second critère de concordance. Ainsi, le deuxième critère de concordance n'était pas respecté.

Pour la dimension WF, le premier critère de concordance était donc respecté, mais pas le deuxième.

Conclusion pour la concordance entre les deux séries de mesures d'après la méthode graphique

On a remarqué que les mesures de l'opérateur novice ont systématiquement été sous-estimées par rapport à celles de l'opérateur expert, excepté pour L.

Les deux dimensions respectant les deux critères de concordance graphique que nous nous étions fixés étaient donc LF et CH. Pour les autres dimensions de référence (SK, HK et WF), seul le premier critère était respecté. Pour les deux dimensions de la rate (H et L), aucun des deux critères n'était respecté.

Conclusion pour la concordance entre les deux séries de mesures d'après les méthodes numériques et graphique.

Dans la mesure où (1) H était la dimension de la rate fournissant le coefficient de concordance de Lin le plus élevé parmi H et L, et (2) LF était la dimension de référence conduisant au coefficient de concordance de Lin le plus élevé parmi toutes les dimensions de référence et vérifiait les deux critères de concordance que nous nous étions fixés, le rapport de dimensions utilisant les dimensions les plus concordantes était donc H/LF. On pouvait tout de même considérer que H/CH et H/SK auraient également été acceptables, car CH vérifiait également les deux critères de concordance que nous nous étions fixés, et SK possédait le meilleur coefficient de concordance de Lin après LF (mais ne vérifiait qu'un seul des critères de concordance).

2.2. Test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyphilose ou d'une leucocytose

Le groupe chlamyphilose comportait 6 individus parmi les 47 oiseaux testés pour la chlamyphilose (13 oiseaux sur les 60 de l'étude n'ont pas été testés pour la chlamyphilose). Le groupe leucocytose comportait 24 individus parmi les 57 oiseaux pour lesquels nous avons le résultat de la NFS. Le groupe témoin comportait 18 individus parmi les 60 oiseaux de l'étude.

2.2.1. Test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyphilose

Le Tableau 7 présente les médianes des rapports de dimensions des animaux atteints de chlamyphilose (n=6) ou non (n=41).

Tableau 7. Médianes et premier et troisième quartiles des rapports de dimensions pour le groupe chlamyphilose (tri par ordre décroissant d'écart relatif)

Rapport de dimensions	Chlamyphilose + Médiane [IQR] (n=6)	Chlamyphilose – Médiane [IQR] (n=41)	Ecart absolu	Ecart relatif (%)	p-value	Significatif (O/N) au seuil corrigé de Bonferroni
H/CH	0,19 [0,18-0,20]	0,15 [0,13-0,17]	0,042	28	0,026	N
H/HK	0,44 [0,43-0,47]	0,35 [0,29-0,40]	0,094	27	0,0093	N
H/LF	0,19 [0,19-0,20]	0,15 [0,13-0,18]	0,040	26	0,015	N
L/WF	2,73 [2,00-2,71]	2,25 [2,71-2,86]	0,48	21	0,027	N
L/LF	0,21 [0,19-0,22]	0,18 [0,16-0,21]	0,028	16	0,043	N
H/SK	0,31 [0,30-0,31]	0,27 [0,25-0,30]	0,039	15	0,060	N
L/HK	0,46 [0,43-0,50]	0,41 [0,35-0,46]	0,051	13	0,046	N
L/CH	0,20 [0,19-0,21]	0,18 [0,16-0,20]	0,022	12	0,046	N
L/SK	0,34 [0,33-0,35]	0,32 [0,29-0,36]	0,020	6	0,55	N
H/WF	3,24 [3,15-3,50]	3,25 [2,80-3,78]	- 0,013	- 0,4	0,70	N

IQR, distance interquartile

Ici, aucune médiane des rapports de dimensions n'était significativement différente entre les groupes de sujets comparés au seuil du risque d'erreur de première espèce corrigé de Bonferroni (0,005). Celui qui s'en approchait le plus était H/HK avec p=0.0093.

Conclusion pour le test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyophilose

On n'a donc pas observé d'association significative entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et un statut chlamyophilose positif.

Les trois rapports de dimensions qui présentaient des écarts relatifs entre les chlamyophilose + et les chlamyophilose - les plus importants étaient H/CH (écart relatif de 28%, $p=0,026$), puis H/HK (écart relatif de 27%, $p=0,0093$) et enfin H/LF (écart relatif de 26%, $p=0,015$).

2.2.2. Quantification du pouvoir discriminant des rapports de dimensions entre les oiseaux atteints de chlamyophilose et les autres : Courbes ROC

Nous avons ensuite quantifié le pouvoir discriminant des trois rapports de dimensions H/HK, H/CH ou H/LF. C'était en effet les trois rapports de dimensions présentant les écarts relatifs entre les oiseaux chlamyophilose + et les oiseaux chlamyophilose - les plus importants. Pour ce faire, nous avons réalisé des courbes ROC à partir des 47 individus de l'étude pour lesquels le statut chlamyophilose était connu (soit 6 positifs et 41 négatifs), Figures 17 à 19.

Figure 17. Courbe ROC pour le rapport H/HK. L'aire sous la courbe était égale à 0,83

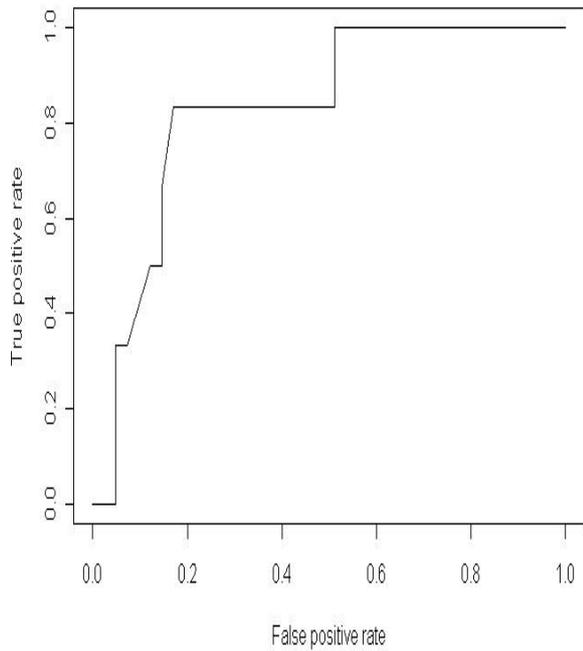


Figure 18. Courbe ROC pour le rapport H/CH. L'aire sous la courbe était égale à 0,79

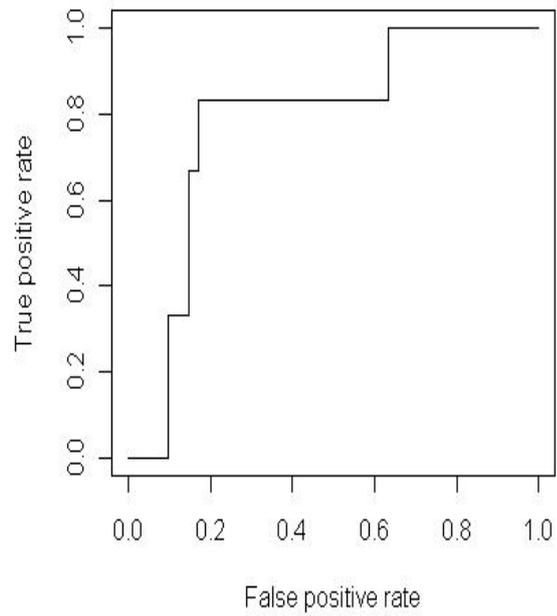
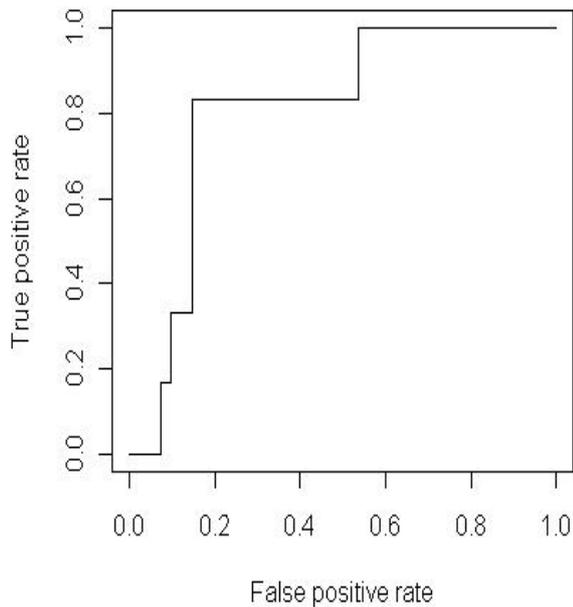


Figure 19. Courbe ROC pour le rapport H/LF. L'aire sous la courbe était égale à 0,81



Ainsi, c'est pour H/HK que l'aire sous la courbe ROC était la plus importante (0,83), suivi par H/LF (0,81) et enfin par H/CH (0,79). On pouvait donc considérer que la probabilité pour que le rapport H/HK soit augmenté chez un oiseau atteint de chlamyphilose était de 83%. Cette probabilité était de 81% pour le rapport H/LF et de 79% pour le rapport H/CH.

Conclusion pour la quantification du pouvoir discriminant de H/HK, H/CH et H/LF dans le groupe chlamyphilose.

Le rapport de dimensions H/HK était celui pour lequel la courbe ROC donnait le meilleur pouvoir discriminant. C'était également H/HK qui s'approchait le plus d'une différence significative entre les oiseaux chlamyphilose + et chlamyphilose - ($p=0,0093$) au seuil du risque d'erreur de première espèce corrigé de Bonferroni (0,005). La probabilité pour qu'il soit augmenté chez un oiseau atteint de chlamyphilose était de 83%.

Cependant les deux autres rapports H/CH et H/LF présentaient également un pouvoir discriminant acceptable entre les oiseaux chlamyphilose + et chlamyphilose - (respectivement 79% et 81%).

2.2.3. Test d'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence d'une leucocytose

Le Tableau 8 présente les médianes des rapports de dimensions des animaux appartenant au groupe leucocytose ou non.

Tableau 8. Médianes des rapports de dimensions pour le groupe leucocytose (tri par ordre décroissant d'écart relatif)

Rapport de dimensions	Leucocytose + Médiane [IQR] (n=24)	Leucocytose – Médiane [IQR] (n=33)	Ecart absolu	Ecart relatif (%)	p-value	Significatif (O/N) au seuil corrigé de Bonferroni
L/SK	0,31 [0,27-0,34]	0,35 [0,31-0,36]	- 0,035	- 10	0,03	N
H/CH	0,15 [0,13-0,20]	0,16 [0,14-0,17]	- 0,012	- 7,6	0,77	N
L/WF	2,29 [1,83-2,71]	2,38 [2,13-2,75]	- 0,083	- 3,5	0,42	N
H/WF	3,35 [2,89-3,82]	3,25 [3,00-3,80]	0,095	2,9	0,81	N
H/HK	0,35 [0,30-0,44]	0,36 [0,31-0,43]	- 0,010	- 2,8	0,92	N
L/HK	0,43 [0,33-0,47]	0,42 [0,37-0,47]	0,0066	1,6	0,49	N
L/CH	0,19 [0,15-0,20]	0,19 [0,17-0,20]	0,0027	1,5	0,61	N
H/SK	0,28 [0,26-0,31]	0,29 [0,32-0,26]	- 0,0040	- 1,4	0,58	N
L/LF	0,19 [0,16-0,20]	0,19 [0,17-0,21]	0,0013	0,70	0,45	N
H/LF	0,16 [0,13-0,20]	0,16 [0,14-0,18]	-0,00030	- 0,19	0,65	N

IQR, distance interquartile

Ici, aucun rapport de dimensions n'était significatif au seuil du risque d'erreur de première espèce corrigé de Bonferroni (0,005).

On n'a donc pas observé d'association significative entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence d'une leucocytose.

Cependant on observait tout de même un écart relatif de 10% pour L/SK ($p = 0,03$).

2.3. Vérification de l'affirmation de EVANS (2008) a propos du diamètre physiologique de la rate et de la fréquence à laquelle la rate est visible sur une radiographie de Gris du Gabon

Le Tableau 9 présente nos résultats pour la mesure des dimensions de la rate (H et L) ainsi que celle du fémur multipliée par 1,5.

Tableau 9. Valeurs (en mm) des médianes des dimensions de la rate en comparaison à celle de 1,5 fois la largeur du fémur dans le groupe témoin (avec la série de mesures de l'opérateur novice) (n=18)

	L	H	1,5WF
Médiane	9,8	8,5	6,0
[IQR]	[9,0-10,0]	[7,0-9,0]	[5,3-6,0]
(en mm)			

L : longueur de la rate

H : Hauteur de la rate

1,5WF : largeur du fémur multipliée par 1,5

IQR, distance interquartile

Les médianes des dimensions L et H (qui valaient respectivement 9,8 et 8,5 mm) étaient ainsi toutes les deux supérieures à la médiane de 1,5 fois la largeur du fémur (1,5WF) qui valait 6,0 mm.

Dans notre groupe témoin de 18 oiseaux, nous n'en avons donc aucun qui vérifiait l'affirmation de EVANS (2008) pour la dimension L.

En pratique, un seul oiseau de notre groupe témoin (soit 6%) vérifiait cette affirmation avec une hauteur de la rate H valant 4,5 mm et une valeur de 1,5 fois WF égale à 6 mm.

Nous avons aussi voulu vérifier la fréquence à laquelle la rate était visible sur les radiographies. Parmi les 92 clichés, l'opérateur expert considérait la rate visible sur 64 clichés, et l'opérateur novice sur 68 clichés. La rate était donc visible dans 70% des cas d'après les mesures de l'opérateur expert, et dans 74% des cas d'après l'opérateur novice. Ces valeurs sont supérieures à ce que rapporte la littérature, qui affirme que la rate ne serait visible que dans un tiers des cas (KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011).

3. Discussion

3.1. A propos de la concordance entre les séries de mesures des deux opérateurs

Le coefficient de concordance de Lin est à préférer au coefficient de corrélation de Pearson car en plus de quantifier la précision de la concordance, il quantifie aussi l'écart systématique entre deux séries de mesures, ce qui représente l'exactitude de la concordance. A l'inverse, le coefficient de corrélation de Pearson ne prend pas en compte l'exactitude de la concordance. En ce sens, ce n'est pas un coefficient de concordance, mais plutôt un « simple » coefficient de corrélation (DESQUILBET, 2013).

Dans notre étude, H était la dimension de la rate (parmi H et L) la plus reproductible entre les séries de mesures des deux opérateurs. LF était la dimension de référence la plus reproductible entre les séries de mesures des deux opérateurs. De plus, LF vérifiait les deux critères de concordance que nous nous étions fixés ((1) la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 2 mm, et (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 4 mm, en valeur absolue).

Ainsi nous avons déterminé que le rapport de dimensions utilisant les dimensions les plus concordantes était H/LF à l'issue de cette analyse.

On pouvait également considérer que H/CH et H/SK auraient été acceptables. En effet la dimension CH vérifiait également les deux critères de concordance que nous nous étions fixés (la série de mesures de l'opérateur novice ne surestimait ou ne sous-estimait pas celle de l'opérateur expert de plus de 2,5 mm, et (2) la très grande majorité des écarts entre l'une et l'autre des séries de mesures était inférieure à 5 mm (en valeur absolue)). Et SK possédait le meilleur coefficient de concordance de Lin après LF (mais ne vérifiait qu'un seul des deux critères de concordance fixés pour SK).

Si la reproductibilité de la mesure de la longueur du fémur semblait intéressante, il est regrettable qu'aucune des deux dimensions de la rate (H et L) ne soit reproductible de façon satisfaisante entre les deux opérateurs.

On remarque que les valeurs des coefficients de concordance de Lin sont les plus mauvaises pour la hauteur de la rate (H), la longueur de la rate (L) et la largeur du fémur (WF). De plus ces trois dimensions avaient des médianes inférieures à 10 mm, (c'était celle de WF qui était la plus faible et c'était aussi WF qui avait le plus mauvais coefficient de concordance de Lin). On pourrait ainsi penser que plus la structure à mesurer est petite, plus la reproductibilité sera mauvaise. Ceci pourrait expliquer la raison pour laquelle les coefficients de concordance étaient mauvais pour ces trois dimensions, et meilleurs pour les autres (HK, SK, CH et LF).

Cette hypothèse se vérifierait dans la publication de STRAUB *et al.* (2002) concernant les mesures de la silhouette cardiaque chez des gris du Gabon. Dans ce dernier les mesures de la dimension de l'os coracoïde (qui mesurait en moyenne 4.6 mm IC_{95%}[4.5-4.7]) présentaient plus d'erreurs que les mesures des dimensions qui étaient plus grandes (par exemple la profondeur du thorax qui faisait en moyenne 49 mm IC_{95%}[48-50]).

En revanche elle ne se vérifierait pas dans la publication de DENNISON *et al.* (2010) concernant les mesures du diamètre du proventricule. Le proventricule ne mesurait en moyenne qu'une dizaine de millimètres et pourtant la concordance entre opérateurs était bonne (elle l'était également pour la mesure de HK, contrairement à notre étude).

D'après notre étude graphique de la concordance, nous avons constaté que toutes les dimensions mesurées par l'opérateur novice ont été sous-estimées par rapport à celles de l'opérateur expert (excepté pour la longueur de la rate L). Il serait intéressant de répéter une nouvelle série de mesure avec un autre opérateur ayant la même expérience clinique que l'opérateur novice afin de voir si les mesures sont à nouveau sous-estimées ou s'il s'agissait d'un hasard.

Enfin, il ne nous est pas possible d'extrapoler ces conclusions à la véritable taille de la rate. Nous avons utilisé sa taille radiographique car c'est la façon la plus accessible de l'évaluer. Cependant, il n'existe pas de donnée permettant de relier cette taille radiographique à sa véritable taille histologique.

3.2. A propos de l'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence de chlamyphilose

Comme nous avons effectué des tests statistiques multiples, nous avons abaissé le risque d'erreur de première espèce à 0,005. Nous n'avons alors pas observé d'association significative entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et un statut chlamyphilose positif dans notre échantillon de 47 oiseaux (avec 6 individus présentant une chlamyphilose).

Les trois rapports de dimensions qui présentaient des écarts relatifs entre les chlamyphilose + et les chlamyphilose - les plus importants étaient H/CH (écart relatif de 28%, $p=0,026$), puis H/HK (écart relatif de 27%, $p=0,0093$) et enfin H/LF (écart relatif de 26%, $p=0,015$). Il est intéressant de noter que parmi ces trois rapports de dimensions, deux d'entre eux (H/CH et H/LF) faisaient partie des trois rapports considérés comme les plus concordants dans la partie précédente (qui étaient H/LF, H/CH et H/SK).

L'absence de significativité des associations est due à la correction du risque d'erreur alpha en raison du test multiple. Cependant, la valeur des écarts relatifs des médianes entre les deux groupes ainsi que les faibles valeurs du degré de significativité (« p ») laisseraient penser que ces trois rapports de dimensions (H/CH, H/HK et H/LF) pourraient en réalité être associés à la présence de chlamyphilose. Ainsi, il serait intéressant dans une nouvelle étude, de tester à nouveau le rapport de ces dimensions avec la présence ou l'absence de chlamyphilose, avec cette fois-ci des hypothèses *a priori*. Le seuil d'erreur de première espèce alpha serait alors fixé à son seuil classique de 0,05, ce qui permettrait de confirmer ces hypothèses.

D'après l'analyse de l'aire sous les courbes ROC, c'était H/HK qui discriminait le mieux les oiseaux atteints de chlamyphilose des oiseaux indemnes, avec une probabilité pour qu'il soit augmenté chez un oiseau atteint de chlamyphilose de 83%. Il est intéressant de noter que c'était pour ce même rapport de dimensions que la comparaison des médianes entre les oiseaux chlamyphilose + et chlamyphilose - s'approchait le plus d'une différence significative ($p=0,0093$) au seuil du risque d'erreur de première espèce corrigé de Bonferroni (0,005).

Le rapport de dimensions H/HK ne présentait pas une bonne concordance entre les deux séries de mesures (le coefficient de concordance de Lin était considéré comme passable : 0,63). Pourtant c'est lui qui discriminait le mieux les oiseaux ayant un statut chlamyphilose positif des oiseaux

ayant un statut chlamyophilose négatif. Compte tenu du potentiel discriminant important de ce rapport, il serait donc intéressant d'améliorer le protocole de mesure afin d'augmenter la reproductibilité entre opérateurs.

Bien que les tests statistiques prennent en compte la taille des effectifs, il faut garder en mémoire que nous n'avons que 6 individus positifs pour le test de dépistage de la chlamyophilose.

3.3. A propos de l'association entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence d'une leucocytose

Nous n'avons pas mis en évidence d'association significative entre la taille de la rate rapportée à une dimension de référence et la présence d'une leucocytose. Il est possible que la méthode de mesure utilisée (une règle) et le support (des clichés de qualité argentique) puissent expliquer ce résultat. En effet une règle n'est pas adaptée pour mesurer des variations de taille de l'ordre du dixième de millimètre. De plus la qualité des clichés argentiques est inférieure à celle des clichés numériques. Il serait intéressant de refaire cette étude avec des clichés de qualité numérique, et d'effectuer les mesures avec un outil informatique plus précis afin de mieux évaluer les variations de taille de la rate. Il est également possible que notre hypothèse soit fautive, et que l'augmentation de production des leucocytes ne s'accompagne pas d'une splénomégalie.

3.4. A propos de l'affirmation de EVANS (2008) concernant le diamètre physiologique de la rate et de la fréquence à laquelle la rate est visible sur une radiographie de Gris du Gabon

EVANS (2008) avait affirmé que physiologiquement, le diamètre de la rate doit être inférieur à 1,5 fois la largeur du fémur chez les Psittacidés.. Cependant, nos résultats contredisent cette affirmation, aussi bien pour la hauteur que pour la longueur de la rate. Il serait intéressant que d'autres auteurs confirment ou infirment ces résultats avec des nouvelles mesures sur des groupes d'individus sains.

Nous avons trouvé que la rate était visible dans 70% des cas d'après les mesures de l'opérateur expert, et dans 74% des cas d'après l'opérateur novice. Ces valeurs sont supérieures à ce que rapporte la littérature, qui affirme que la rate ne serait visible que dans un tiers des cas

(KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011). L'opérateur expert et l'opérateur novice n'ont pas estimé que la rate était visible sur le même nombre de clichés radiographiques. Une source d'erreur pourrait être une distension des intestins qui apparaissent en coupe, et qui pourraient alors être confondus avec la silhouette de la rate lorsqu'ils se trouvent dans son aire de projection. Cette hypothèse serait confortée par le fait que l'opérateur novice a plus souvent estimé que la rate était mesurable que l'opérateur expert (respectivement 74% et 70%). Ce dernier ayant moins d'expérience que l'opérateur expert, il aurait plus facilement pu confondre une anse intestinale en coupe avec la silhouette de la rate. Lorsque la rate n'est radiographiquement pas visible, il peut s'agir d'un effet de masse par d'autres organes qui vont la déplacer. Elle se trouve alors superposée aux organes de la cavité coelomique et n'est plus distinguable sur la radiographie. Une autre origine envisageable serait une diminution de sa taille. Cependant ceci n'est jamais mentionné dans la littérature.

CONCLUSION

Le premier objectif de notre étude était de mettre en place et valider un protocole de mesure radiographique de la rate sur des clichés de Gris du Gabon. Nous avons donc rassemblé toute la bibliographie concernant la mesure radiographique des organes de la cavité coelomique des Psittacidés. Nous avons également cherché dans la littérature les données concernant la taille de la rate et sa forme, ainsi que les techniques radiographiques à employer pour optimiser la qualité des clichés.

Ces informations nous ont permis de déterminer quelles structures mesurer sur les radiographies. Nous avons utilisé deux dimensions de la rate : sa hauteur H et sa longueur L. Puis nous avons fixé cinq autres dimensions à mesurer (correspondant à d'autres structures anatomiques), qui ont servi de dimensions « de référence ». Nous avons ainsi pu faire des rapports de dimensions intégrant une dimension de la rate elle-même, et une dimension de référence.

Pour valider la reproductibilité de notre protocole de mesures, deux opérateurs l'ont mis en application. Nous avons alors déterminé les dimensions les plus reproductibles entre ces deux séries de mesures. H était la dimension de la rate et LF (longueur du fémur) la dimension de référence les plus reproductibles. Le rapport de dimensions le plus concordant était donc H/LF. On pouvait également considérer que H/CH et H/SK auraient été acceptables.

Par ailleurs, lors de splénomégalie, la littérature place en première hypothèse la présence de chlamyphilose. Notre protocole de mesure nous a donc permis de chercher par la suite si, dans notre population d'étude, il existait une association entre la taille de la rate et la présence de chlamyphilose. D'après nos résultats, nous n'avons pas observé d'association significative. Les trois rapports de dimensions qui présentaient des écarts relatifs les plus importants entre les oiseaux atteints de chlamyphilose et ceux non atteints étaient H/CH (écart relatif de 28%, $p=0,026$), puis H/HK (écart relatif de 27%, $p=0,0093$) et enfin H/LF (écart relatif de 26%, $p=0,015$). Il est intéressant de noter que parmi ces trois rapports de dimensions, deux d'entre eux (H/CH et H/LF) faisaient partie des trois rapports de dimensions considérés comme les plus concordants entre les deux opérateurs (qui étaient H/LF, H/CH et H/SK). Il serait intéressant d'effectuer une nouvelle étude permettant de confirmer ou d'infirmer ces résultats, car l'exploitation statistique des résultats a été influencée par le manque de données dans la littérature.

Le seuil permettant de conclure ou non à une association était donc plus strict que si nous avions pu faire des hypothèses *a priori*.

Le rapport qui serait le plus intéressant à considérer serait alors H/HK car c'est celui qui discriminait le mieux les oiseaux atteints de chlamydophilose des oiseaux indemnes. La probabilité pour qu'il soit augmenté chez un oiseau atteint de chlamydophilose était de 83%. De plus il est intéressant de noter que c'était pour ce même rapport de dimensions que la comparaison des médianes entre les oiseaux atteints ou non de chlamydophilose s'approchait le plus d'une différence significative ($p=0,0093$). Cependant ce rapport de dimensions ne présentait pas une bonne concordance entre les deux séries de mesures (le coefficient de concordance de Lin était considéré comme passable : 0,63), il serait donc également intéressant d'améliorer le protocole de mesure afin d'augmenter la reproductibilité entre opérateurs.

Par ailleurs, nous avons formulé l'hypothèse qu'une splénomégalie pouvait être associée à une leucocytose. Cependant nos résultats n'ont pas mis en évidence d'association significative.

Enfin, nous avons utilisé notre protocole de mesure pour vérifier certaines affirmations de la littérature. Nos résultats n'étaient pas en accord avec un auteur (EVANS, 2008), qui avait affirmé que physiologiquement, le diamètre de la rate doit être inférieur à 1,5 fois la largeur du fémur chez les Psittacidés. De plus, la rate était visible dans 70% des cas d'après l'opérateur expert, et 74% des cas d'après l'opérateur novice, ce qui est supérieur aux données de la littérature qui annonce 33% (KRAUTWALD-JUNGHANNS, 1996 et KRAUTWALD-JUNGHANNS *et al.*, 2011).

BIBLIOGRAPHIE

BRUGNE-CAZIN V. La chlamyidiose aviaire. Thèse Méd. Vét., Nantes, 1986, n°71.

DENNISON SE, PAUL-MURPHY JR, ADAMS WM Radiographic determination of proventricular diameter in psittacine birds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2008, **232**, 709-714.

DENNISON SE, PAUL-MURPHY JR, YANDELL BS, ADAMS WM. Effect of anesthesia, positioning, time, and feeding on the proventriculus : keel ratio of clinically healthy parrots. *Vet. Radiol. Ultrasound*, 2010, **51**, 141–144.

DESQUILBET L. *Concordance entre deux séries de mesures*, v5.9. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Biostatistique et d'Epidémiologie, 2013, 18 p.

DONELEY B. Clinical anatomy and physiology. *In : Avian medicine and Surgery in Practice*. London, Manson Publishing Ltd, 2011, 38-39.

DUCHESNE S. Carnet de clinique sur les psittacidés. Thèse Méd. Vét. Alfort, 2004, n°19.

EVANS M. Avian radiography. *In : British Small Animal Veterinary Congress*, Birmingham, 2008.

FUDGE AM. Avian Chlamydiosis. *In : ROSSKOPF W, WOERPEL R. Diseases of cage and aviary birds*, 3rd ed.. Baltimore, Williams and Wilkins , 1996, 575-576.

FUHRER L. Sémiologie médicale des oiseaux de fauconnerie et d'autourserie. Thèse Méd. Vét., Alfort, 1989, n°75.

GLICK B. Immunophysiology. *In : STURKIE PD. Avian Physiology*. 4th ed. New York, Springer-Verlag, 1986, 87-101.

GLICK B. Immunophysiology. *In : CAUSEY WHITTOW G. Sturkie's avian physiology*. 5th ed.. San Diego, Academic Press, 2000, 659-661.

GOURLAY P. Anatomie radiographique comparée des organes de la cavité coelomique des oiseaux : aspects physiologiques. Thèse Méd. Vét., Nantes, 2003, n°172a.

HARCOURT-BROWN N. Anatomy and physiology. Diagnostic imaging. In : HARCOURT-BROWN N, CHITTY J. *BSAVA Manual of Psittacine Birds*. 2nd ed. . Shurdington, British Small Animal Veterinary, 2005, 18.

HARRISON GJ, LIGHTFOOT TL. *Clinical avian medicine*. Palm Beach, Spix Publishing Inc, 2006, **2**, 608.

HAWKINS MG, BARRON HW, SPEER BL, POLLOCK C, CARPENTER JW. Birds. In : CARPENTER JW. *Exotic Animal Formulary*. 4th ed. St Louis, Elsevier Saunders, 2013, 332.

KRAUTWALD-JUNGHANNS ME. Avian Radiology. In : ROSSKOPF W, WOERPEL R. *Diseases of cage and aviary birds*, 3rd ed. Baltimore, Williams and Wilkins, 1996, 650-652.

KRAUTWALD-JUNGHANNS ME, HENDRICH-SCHUSTER S. Radiography – Spleen. In : BEYNON PH. *BSAVA Manual of Psittacine Birds*. Shurdington, British Small Animal Veterinary, 1996, 66.

KRAUTWALD-JUNGHANNS ME, PEES JM, REESE S, TULLY T. *Diagnostic Imaging of Exotic Pets. Birds – Small Mammals – Reptiles*. Hannover, Schlütersche, 2011, 22.

O'MALLEY B. Avian anatomy and physiology – Immune system – Spleen. In : *Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species. Structure and function of mammals, birds, reptiles and amphibians*. Edinburgh, Elsevier Saunders, 2005, 118.

PERNEGER T, PERRIER A. Analyse d'un test diagnostique : Courbe ROC, ou « receiving operating characteristic ». *Rev. Mal. Resp.*, 2004, **21**, 398-401.

QUINTON JF. Imagerie médicale chez les oiseaux. In : BOUCHER S, BULLIOT C, DOUMERC G, FERREIRA X, LEMBERGER K, MENTRÉ V. *et al. Examens complémentaires chez les NAC*. Rueil-Malmaison, Editions du Point Vétérinaire, 2011, 211.

RUPLEY A. Imaging. In : *Manual of avian practice*. Philadelphia, WB Saunders, 1997, 403-417.

SILVERMAN S, TELL L. Radiology Equipment and Positioning Techniques Radiology of Birds. *In : An Atlas of Normal Anatomy and Positioning*. St Louis, Saunders Elsevier, 2010, 2-6.

STANFORD M. Cage and aviary birds. *In : MEREDITH A, JOHNSONS-DELANEY C. BSAVA Manual of Exotic Pets, A foundation Manual 5th ed..* Quedgeley, British Small Animal Association, 2010, 178.

SMITH KA, BRADLEY KK, *et al.* Compendium of measures to control Chlamydophila psittaci (formerly Chlamydia psittaci) infection among humans (psittacosis) and pet birds. . *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2005, **4**, 532-539.

STRAUB, PEES JM, KRAUTWALD-JUNGHANNS ME. Measurement of the cardiac silhouette in psittacines. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2002, **1**, 76-79.

TREVEJO RT, CHOMEL BB, *et al.* Evaluation of the polymerase chain reaction in comparison with other diagnostic methods for the detection of Chlamydia psittaci. *J Vet Diagn Invest.*, 1999, **6**, 491-496.

TULLY TN Jr, SHANE SM, *et al.* Comparison of procedures to detect Chlamydia psittaci antibodies in cockatiels (Nymphicus hollandicus). *Avian Dis.*, 1996, **2**, 266-271.

ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE LA TAILLE DE LA RATE SUR DES RADIOGRAPHIES CHEZ LE GRIS DU GABON

(Psittacus erithacus)

NOM et Prénom : BOYER Charlotte

Résumé : Le premier objectif de notre étude rétrospective était de mettre en place et valider un protocole de mesure radiographique de la rate sur des clichés de Gris du Gabon. Nous avons donc déterminé un rapport de dimensions intégrant une dimension de la rate elle-même, et une dimension d'une autre structure anatomique. Ces mesures ont été effectuées par deux opérateurs. D'après nos résultats, H (hauteur de la rate) était la dimension de la rate et LF (longueur du fémur) la dimension de référence les plus reproductibles. Ainsi nous avons déterminé que le rapport de dimensions le plus concordant était H/LF. Par ailleurs, la littérature associe la présence d'une chlamydophilose à celle d'une splénomégalie. Nous avons regardé s'il existait dans notre échantillon une association entre un rapport de dimensions et la présence de chlamydophilose. D'après nos résultats, nous n'avons pas observé d'association significative. D'après nos analyses, c'était H/HK (hauteur de la rate sur hauteur du bréchet) qui discriminait le mieux les oiseaux atteints de chlamydophilose des indemnes. La probabilité pour qu'il soit augmenté chez un oiseau atteint était de 83%. Le rapport de dimensions H/HK ne présentait cependant pas une bonne concordance entre les deux séries de mesures. D'autre part, nous avons formulé l'hypothèse d'une splénomégalie lorsque l'oiseau présente une leucocytose. Nos résultats n'ont pas montré d'association significative entre ces deux éléments. Enfin, la rate était visible de façon satisfaisante dans 70 à 74% des cas, contrairement à ce qu'affirme la littérature (un tiers des cas).

Mots clés : RADIOGRAPHIE / LECTURE RADIOGRAPHIQUE / RATE / TAILLE SPLENIQUE / CHLAMYDOPHILOSE / LEUCOCYTOSE / SPLÉNOMÉGALIE / PSITTACIDÉ / OISEAU DE CAGE / PERROQUET / GRIS DU GABON / PSITTACUS ERITHACUS

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Dr Henry CHATEAU

Assesseur : Loïc DESQUILBET

Invité : Dr Minh HUYNH

SPLEEN SIZE RETROSPECTIVE STUDY IN AFRICAN GREY PARROTS X-RAYS (*Psittacus erithacus*)

SURNAME : BOYER

Given name : Charlotte

Summary : Our retrospective study first aim was to determine and validate a radiographic protocol of the spleen measurement in African Grey parrots. We used a ratio of the spleen dimension itself and another structure dimension (called a “reference dimension”). The protocol was repeated by two operators. According to our results, the most reproducible dimension of the spleen was H (spleen height), and the most reproducible reference dimension was LF (femur length). Thus, we have determined that the most reproducible ratio was H/LF. As the literature links a splenomegaly to chlamydiosis, we then looked if there was an association between one ratio and chlamydiosis. According to our results, we did not find a significant association. It was H/HK (spleen height to keel height) that best discriminated infected from healthy birds. The probability that this ratio would be increased in an infected bird was 83%. However, this ratio was not very reproducible between the operators. We also stated the hypothesis that a splenomegaly could be associated with a leukocytosis. However our results did not show a significant association. Finally, the spleen was satisfactorily seen in 70 to 74% of the cases, which is higher than what is said in the literature (one third of the cases).

Keywords : RADIOGRAPHY / RADIOGRAPHIC ASSESSMENT / SPLEEN / SPLENIC SIZE / CHLAMYDIOSIS / LEUKOCYTOSIS / SPLENOMEGALY / PSITTACIDAE / BIRD CAGE / PARROT / AFRICAN GREY / PSITTACUS ERITHACUS

Jury :

President : Pr.

Director : Dr Henry CHATEAU

Assessor : Loïc DESQUILBET

Guest : Dr Minh HUYNH