

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزاره التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة ابن خلدون تيارت
UNIVERSITE IBN KHALDOUN – TIARET
معهد علوم البيطرة
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
قسم الصحة الحيوانية
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire.

**Présenté par : DEBBAR ANIS ALA EDDINE
REBAI AYMEN**

Thème

**Implication de l'examen cytologique dans le diagnostic des protozooses chez le
chien : étude de cas**

Soutenu le : 25 / 06 / 2023

Jury:

**Président : Dr Smail Fadhila
Encadrant: Dr Slimani Khaled Mabrouk
Examineur: Pr Kouidri Mokhtaria**

Grade

**MCA
MCB
Professeur**

Année universitaire 2022-2023

Dédicace

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mes chers frères pour leur appui et leur encouragement,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Remerciements

Au début, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Tout d'abord, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre cher professeur et encadrant **Mr. Slimani Khaled** et notre cher **Dr. Bessghieur** qui a généreusement partagé ses riches connaissances, et qui n'a cessé de nous suivre et prodiguer durant toute l'année.*

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à tous les enseignants et enseignantes de l'institut des sciences vétérinaires du Tiaret.

Liste des abréviations

AC: Anticorps.

Ag: Antigène.

Am: Amastigote.

AP: Anaplasma.

B.canis: Babesia canis.

BA : Berger allemand.

Bab: Babésiose.

BAT: Berger d'atlas.

BB: Berger belge.

BM: Bleu de méthylène.

BRQA: Braque allemand.

BRQF: Braque français.

CLQ: calque.

Cm: Cellule mésothéliale.

CR: Croisé.

DA: Dogue argentin.

Df: Dirofilaria.

EDTA: éthylène diamine tétra-acétique.

ELISA: enzyme-linked immunoassay

Ex: Exemple.

Fig: Figure.

FS: Frottis sanguin.

FTR: Fox terrier.

G: Gauge.

GR: Globule rouge.

HB: Hémoglobine.

Lymph: Lymphocyte.

Mc: Macrophage.

Mer: Morules d'ehrlichiose.

PAF: Ponction a aiguille fine.

PCR: Polymérase Chain Réaction.

PG: ponction ganglionnaire.

PNT: Pointer.

PT: Pointer.

PV: vacuole parasitophore

RTW: Rottweiler.

T.cruzi: Trypanosoma cruz.

Sommaire

Dédicace

Remerciements

Liste des abréviations

INTRODUCTION GENERAL

CHAPITRE I : L'EXAMEN CYTOLOGIQUE

INTERET ET LIMITE DE L'EXAMEN CYTOLOGIQUE:	3
1.TECHNIQUE ET L'EQUIPEMENT	4
1.1 CYTOPONCTION DES MASSES	4
1.2 CHOIX DE LA SERINGUE ET DE L'AIGUILLE:	4
1.3 PREPARATION DU SITE :	5
1.4 TECHNIQUES D'ASPIRATION:	5
1.5 TECHNIQUES DE PONCTION SANS ASPIRATION :	7
1.6 LES CALQUES	8
1.7 RACLAGE.....	9
1.8 ÉCOUVILLONNAGES.....	9
2. PREPARATION DE FROTTIS :	10
2.1 TECHNIQUE COMBINÉE	10
2.2 METHODE PAR « ECRASEMENT »	11
2.3 TECHNIQUE DU FROTTIS SANGUIN.....	11
3 .PREPARATION DES FROTTIS DE LIQUIDES:	12
4. COLORATIONS:	13
4.1 TYPES DE COLORATIONS:	13
4.1.1 COLORATION DE TYPE ROMANOWSKY	13
4.1.2 COLORATION AU BLEU DE METHYLENE	14
4.1.3 COLORATION PAPANICOLAOU	14
5.ÉVALUATION MICROSCOPIQUE	15
6. INTERPRETATION	16

6.1 INFLAMMATION	18
6.2 NEOPLASIE	18

CHAPITRE II :INTERET CYTOLOGIQUE DES GANGLIONS LYMPHATIQUES

1. LES GANGLIONS LYMPHATIQUES.....	22
2. STRUCTURE D'UN GANGLION LYMPHATIQUE :	22
3. IDENTIFICATION DES TYPES DE CELLULES ET AUTRES ELEMENTS LYMPHOÏDES:	23
3.1 PETITS LYMPHOCYTES:.....	23
3.2 LYMPHOCYTES INTERMEDIAIRES :	24
3.3 CELLULES PLASMATIQUES ET PLASMOBLASTES:	25
3.4 NEUTROPHILES:.....	26
3.5 MACROPHAGES:	27
3.6 ÉOSINOPHILES:	27
3.7 MASTOCYTES:	27
3.8 CELLULES NEOPLASIQUES AUTRES QUE LES CELLULES LYMPHOÏDES:	27
3.9 FRAGMENTS CYTOPLASMIQUES ET NOYAUX LIBRES :	28
3.10 PIGMENT :	28
4. INTERPRETATION DES RESULTATS CYTOLOGIQUES:.....	29
4.1 GANGLIONS LYMPHATIQUES NORMAUX :	29
4.2 CYTOLOGIE D'UN GANGLION LYMPHATIQUE REACTIONNEL :.....	29
4.2.1 GANGLION LYMPHATIQUE REACTIF OU HYPERPLASIQUE:.....	30
4.2.2 LYMPHADENITE:.....	32
4.2.2.1 LYMPHADENITE NEUTROPHILE:	32
4.2.2.2 LYMPHADENITE A EOSINOPHILES:	32
4.2.2.3 LYMPHADENITE HISTIOCYTAIRE OU PYOGRANULOMATEUSE:	33

CHAPITRE III : LES PRINCIPAUX PROTOZOAIRE CHEZ LE CHIEN

1.PRINCIPAL PROTOZOAIRE CHEZ LE CHIEN	37
1.1 PARASITES OBSERVABLE DANS LE PLASMA: TRYPANOSOMIASES CANINES	37
1.1.2 DEFINITION:	37
1.1.3 IDENTIFICATION :.....	37

1.1.4 CYCLE EVOLUTIF:	37
1.1.5 IMPORTANCE :	38
1.1.6 DIAGNOSTIC :	39
1.1.7 TRAITEMENT ET PREVENTION :	40
2. LE PARASITE DU GLOBULE (BABESIOSES CANINES)	41
2.1 DEFINITION:	41
2.2 LES PARASITES:	42
2.3 LE ROLE DES TIQUES:	43
2.4 L'ACTION PATHOGENE DU PARASITE:.....	43
2.5 ETUDE CLINIQUE :	44
2.5.1 DESCRIPTION DES FORMES CLINIQUES.....	44
2.5.1.1 LA FORME TYPIQUE SE CARACTERISE PAR :	45
2.5.1.2 LES FORMES ATYPIQUES SONT NOMBREUSES:	45
2.6 LES BASES DE DIAGNOSTIQUE :	46
2.6.1 DIAGNOSTIC DE CERTITUDE :	46
2.7 PRONOSTIC:	46
2.8 TRAITEMENT:	47
2.8.1 TRAITEMENT SPECIFIQUE :	47
2.9 PROPHYLAXIE:	48
3. PARASITE DES CELLULES DU SYSTEME DES PHAGOCYTES MONONUCLEAIRE	48
3.1 LEISHMANIOSE CANINE:	48
3.1.1 DEFINITION.....	48
3.1.2 EPIDEMIOLOGIE:	48
3.1.3 CYCLE EVOLUTIF :	49
3.4 ETUDE CLINIQUE :	51
3.5 DIAGNOSTIC:	53
3.6 TRAITEMENT:	55
3.7 PROPHLAXIE:	55
3.2 HEPATOZOONOSE CANINE:.....	56
3.2.1 Définition	56

3.2.2 EPIDEMIOLOGIE	57
3.2.3 LE PARASITE	57
3.2.5 ETUDE CLINIQUE	58
3.2.5 DIAGNOSTIC	58
3.2.6 TRAITEMENT	58
3.2.7 PROPHYLAXIE	58

Chapitre IV : Apparence cytologique des différents protozoaires

1. LEISHMANIA :	60
2. HEPATOZOON SSP :	61
3. BABESIA :	62
4. TRYPANOSOMA :	63

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I: MATERIELS ET METHODES

1. LIEU ET DUREE D'ETUDE :	66
2. DEMARCHES CLINIQUES	66
3. MATERIELS:	70
3.1 MATERIELS UTILISES POUR CYTOLOGIE GANGLIONNAIRE	70
3.2 COLORANTS :	70
3.3 POUR LA LECTURE DES FROTTIS :	72
4. ORGANIGRAMME DEMARCHE CLINIQUE	73
5. PONCTION GANGLIONNAIRE	75
6. ETALEMENT	75
7. CALQUE	76
8. REALISATION D'UN FROTTI SANGUIN	76
9. TECHNIQUE DE COLORATION	77

CHAPITRE II :RESULTATS ET DISCUTION

PRESENTATION DES CAS :	88
DISCUSSION :	97
CONCLUSION	101
RESUME.....	103
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	105

Liste des tableaux :

Tableaun° 1: traitement des babesioses canines (escap,2011).	47
Tableau n°2 : les etapes de diagnostic de la leishmaniose	54
Tableau n°3: traitement de la leishmaniose selon le stade clinique	55
Tableau no 04 : cas etudies	65
Tableau 05 : resultat d'etudes :	77

Liste des figures

Figure 1: une technique par aspiration. L'aiguille est alors montee sur la seringue et introduite a la surface de la masse.....	6
La figure 2 : presente une illustration en plusieurs etapes de la procedure de paaf sans aspiration.....	8
Fig3: glande salivaire normale. Aspiration tissulaire chez un chien.....	17
Figure 4:algorithme pour faciliter l'examen de la preparation cytologique	19
Figure 5: ganglion lymphatique prescapulaire hypertrophie d'un schnauzer miniature atteint d'une lymphadenite generalisee due a desmycobacteries	21
Figure 6 : ganglion lymphatique normal montrant des structures dans le cortex et la moelle.....	23
Figure 7: ponction ganglionnaire d'un chien atteint d'une stimulation antigenique precoces. :	25
Figure 8 : ganglion lymphatique reactif mis en evidence des :	26
Figure 9 :de nombreux petits lymphocytes sont presents ainsi que plusieurs plasmocytes bien differencies (fleches). Un nombre plus eleve de lymphocytes de taille moyenne que prevu dans les ganglions lymphatiques normaux est note au centre.....	31
Figure 10: ganglion lymphatique reactif. (empreinte tissulaire chez un chien). Notez l'augmentation marquee du nombre de plasmocytes composes de divers degres de differenciation. Un macrophage charge d'hemosiderine est present a droite du champ.	31
Figure 11: lymphadenite neutrophile. Aspiration tissulaire. Chat. Quatre neutrophiles non degeneres sont presents ainsi que des lymphocytes petits et moyens. Un grand lymphocyte est egalement note. (wright ; huile hp	32
Figure 12: lymphadenite a eosinophiles. Aspiration tissulaire chat. Deux eosinophiles sont representes dans une population de petits lymphocytes provenant d'un animal atteint d'un ulcere buccal de rongeur. (wright-giemsa ; huile hp.).....	33
Figure: 13: aspiration des ganglions lymphatiques. Les ganglions lymphatiques presentent un nombre accru de lymphocytes moyens et de plasmocytes en plus de la reponse inflammatoire. Notez l'organisme rickettsial dans le macrophage. (romanowsky : huile hp.).....	34
Figure 14 : algorithme facilitant l'evaluation des frottis d'aspiration et de calque du nœud lymphatique (.....	35
Figure 15 : la forme amastigote de trypanosoma vansi dans un frottis sanguin	40
Figure 16 : cycle evolutif du trypanosoma cruzi	40

Figure 17: babesia canis intra erythrocytaire .frottis sanguin colore au giemsa.	42
Figure 18 : les mecanismes d'hemolyse	44
Figure 19: syndrome de polyradiculonevrite-myosite associe avec la babesiose canine	45
Figure 20 : la methode de realisation d'un frotti sanguin pour diagnostique une babesiose.	46
Figure 21 : les phlebotomes sont les vecteurs de la leishmania)	49
Figure 22 : cycle evolutif de leishmania infantum.....	49
Figure 24 : les promastigotes chez le vecteur	51
Figure 25 : signes clinique de la leishmaniose canine. (a - c)dermatite et lesions trouvees dans la partie superieure de la tete, museau, oreilles et paupieres ou (d) membres. (e) onychogryphose. (f) dermatite exfoliative. (g) keratite et des plais cutane	53
Figure 26 : leishmania spp. Chien, objectif 100x. Notez la forme caracteristique en (t) des organismes.....	58
Figure 27 : hepatozoon americanum, chien, sang peripherique, objectif x100	59
Figure 28: sang peripherique d'un chien infecte par babesia canis. Deux piroplasmes sont observes dans un seul gr dans ce champ (coloration de wright, grossissement d'origine 330x).....	60
Figure 29: érythrocytes d'un chien presentant les formes annulaires plus petites et plus amorphes caracteristiques de l'infection a babesia gibsonii.....	60
Figure 30 : la forme amastigote de trypanosoma evansi dans un frottis sanguin	61
Figure 31 : lames (citoglas. Ref217102 boite de 50 pcs).	68
Figure 32 : seringues pour ponction a aiguille fine (pronto seringue c.i.cretes 2.5ml, 25g. 0.50x16ml).....	68
Figure 33 : les colorants may-grunwald et giemsa en solution (ref spomg-ot-1l).....	69
Figure 34 :kit ral 555 (ral.diagostics).	69
Figure 35 : bio-diff kit diascan	70
Figure 36 : :microscope optique (optika b350)	70
Figure 37: saisie du ganglion lymphatique	72
Figure 38 : ponction du ganglion lymphatique a l'aiguille fine.	72
Figure 39 : depot du prelevement ganglionnaire recolte dans la lame.....	73

Figure 40 : etalement avant coloration.	73
Figure 41 : realisation d'un calque cutanee	74
Figure 41: realisation d'un frotti sanguin	74
Figure 42 : l'etape de fixation du lame	75
Figure 43 : l'etape de fixation de coloration	75
Figure 44 : repartition des cas atteint par une infection a protozoaires diagnostiques par rapport a tous les cas consultes pour different motifs.	83
Figure 45 : repartition des cas etudier en fonction du diagnostic cytologique et la nature de la pathologie	83
Figure 46 : repartition des cas pathologie a protozoaire en fonction de la race	84
Figure 47 : repartitions des cas de la babesiose selon la forme symptomatique	84
Figure 48 : repartitions des cas de la leishmaniose selon la dominante symptomatologie	85
Figure 49 : braque français consulte pour une distension abdominal (posture de batracien)	86
Figure 50: vue microscopique d'un frottis de liquide d'ascite apres coloration diff quick qui montre la presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmiques (am) des cellules mesenchymateuse (cm) macrophage (mc) chez un braque français (gx 40).	86
Figure 51: akita americain consulte pour des lesions dermiques et oculaires liees a une atteinte fongique.	87
Figure 52: akita americain consulte pour des lesions dermiques et oculaires liees a une atteinte fongique.	87
Figure 53: vue microscopique d'un calque oculaire apres coloration diff quick qui montre la presence de histoplasma capsulatum(his) chez une chienne akita americain (gx 40).	88
Figure 54: vue microscopique d'une ponction ganglionnaire apres coloration, diff quick qui montre une adenite granulomateuse leishmanique avec presence d'amastigotes extra cytoplasmiques (am) des petites lymphocytes matures (lymph) et des macrophages (mc) et des gr (gx40)	88
Figure 55: berger allemand consulte pour une paralysie brutale.	89
Figure 56: vue microscopique d'un frottis sanguin apres coloration diff quick qui montre la presence des babesies(bab) a l'interieur des erythrocytes(gr) chez un berger allemand gx40.	89
Figure 57: galgo espagnol consulte pour une distension abdominale.	90
Figure 58: vue microscopique d'un frottis de liquide d'epanchement apres coloration ral 555 qui montre la presence des babesies(bab) intra et extra erythrocytaire(gr) chez un chien galgo espagnol (gx40)	90

Figure 59: rottweiler consulte pour une toux chronique et intolerance a l'effort.	91
Figure 60: vue microscopique d'un frottis sanguin apres coloration diff quick qui montre la presence des microfilaires(df). (gx40)	91
Figure 61: berger belge consulte pour anorexie abattement et un ictere.	92
Figure 62: berger belge consulte pour anorexie abattement et un ictere.	92
Figure 63: vue microscopique d'un frottis sanguin au apres coloration diff quick qui montre la presence d'anaplasma (ap) a l'interieur du globule rouge(gr) chez un berger belge malinois (gx40).....	93
Figure 64: berger allemand consulte pour un epistaxis.	93
Figure 65: vue microscopique d'une ponction ganglionnaire apres coloration ; mgg (ral555) qui montre une adenite granulomateuse avec presence des morules d'ehrlichioses extra cytoplasmiques (mer) des petits lymphocytes matures (lymph) et de macrophages (mc) chez un chien berger allemand.	94

Introduction général

Introduction

Les maladies vectorielles représentent un motif de consultation fréquent pour le vétérinaire, parmi ces maladies on compte aussi les protozooses du sang et des ganglions comme la babésiose, la leishmaniose et la trypanosomoses etc. ...

Ces protozooses se ressemblent sur le plan symptomatologique c'est pour cela le recours aux examens complémentaires comme la cytologie est nécessaire pour un diagnostic précis et une prise en charge thérapeutique adéquate et efficace.

Cette étude a comme objectif de diagnostiquer les différentes pathologies vectorielles plus précisément les maladies causées par différents protozoaires, cliniquement et cytologiquement, de déterminer leurs fréquences ainsi qu'a la symptomatologie dominante et constante et d'évaluer l'efficacité et la fiabilité de l'examen cytologique.

*Chapitre I : l'examen
cytologique*

L'examen cytologique est devenu un outil diagnostique très utile pour les praticiens vétérinaires. Dans la plupart des cas, les échantillons cytologiques peuvent être prélevés rapidement, facilement et à peu de frais, avec peu ou sans aucun risque pour le patient. Souvent, les échantillons peuvent être préparés, colorés et interprétés tandis que le client patiente dans la salle d'examen. L'interprétation cytologique permet souvent d'établir un diagnostic, d'identifier la nature de la maladie, de faire un choix thérapeutique, de réaliser un pronostic et/ou de déterminer les examens complémentaires à réaliser ultérieurement. Les patients reçoivent, par conséquent, un traitement plus adapté et/ou plus rapide, et le client est plus satisfait (Tyler *et al.* 2006).

Intérêt et limite de l'examen cytologique:

L'exactitude de l'examen cytologique en tant qu'outil diagnostique a été étudiée et est souvent retrouvée dans la littérature humaine et vétérinaire. La plupart des études ont comparé les résultats cytologiques aux résultats histopathologique et/ou au comportement biologique de la lésion.

Certaines études indiquent que la ponction-aspiration à l'aiguille fine (PAF) est plus précise que la biopsie au trocard conventionnelle (avec ou sans aspiration). L'aspiration à l'aiguille fine présente très peu de risques pour le patient. (Tyler *et al.* 2006).

Les complications causées par l'aspiration à l'aiguille fine des organes abdominales sont bien moins importantes que celles qui surviennent lors des biopsies au trocard. Dans une étude menée sur 11700 patients humains, Livraghi *et al.* ont conclu que «de sérieuses complications (péritonite en transperçant le tractus digestif, formation de fistule, bactériémie, propagation de cellules tumorales) théoriquement possibles dans la plupart des PAF n'ont jamais été décrites ou dans un pourcentage tellement minime de cas qu'elles peuvent être considérées comme négligeables en pratique» (Tyler *et al.* 2006).

La dissémination de cellules malignes le long du trajet de la voie d'aspiration et par conséquent, l'induction de métastases hématologiques de tumeurs malignes suite à une PAF est extrêmement rare et ne présente pas de danger pour le patient en pratique, surtout si le trajet de la voie d'aspiration est également excisé lors de l'exérèse de la tumeur maligne. (Tyler *et al.* 2006).

1. Technique et l'équipement

Les échantillons cytologiques peuvent être collectés par écouvillonnage, raclage et/ou en effectuant une cytoponction de la lésion. Les techniques utilisées pour collecter les échantillons cytologiques et

préparer les lames varient en fonction de leur localisation anatomique, des caractéristiques du tissu qui est échantillonné et des caractéristiques du patient (ex: docilité).

Dans la mesure du possible, certains frottis ne doivent pas être colorés, de manière à être disponibles pour pouvoir, si nécessaire, mettre en œuvre des colorations spéciales. Les techniques spécifiques et les procédures de préparation seront discutées dans le chapitre traitant du tissu pour lequel elles sont utilisées.

Les considérations générales pour collecter et préparer les échantillons cytologiques sont détaillées ci-dessous.(Tyleretal. 2006).

1.1 Cytoponction des masses

La ponction à l'aiguille fine (PAF) est la méthode la plus adaptée pour obtenir des échantillons de masses. La PAF évite la contamination superficielle, qui peut avoir lieu au cours des raclages ou des calques, et permet de prélever des cellules dans différentes zones au sein de la lésion, afin d'obtenir du matériel représentatif. Les PAF peuvent être réalisées en effectuant ou non une aspiration. La méthode utilisée dépend du type de lésion ainsi que de la préférence et de l'expérience du praticien.

La technique sans aspiration permet de mieux contrôler l'extrémité de l'aiguille et peut être utile dans de nombreux cas, en particulier pour les biopsies écho-guidées des lésions profondes.

Cette technique est également efficace pour les lésions ou les organes très vascularisés car elle permet de prélever des cellules en limitant la contamination sanguine.

Les techniques d'aspiration peuvent être nécessaires dans le cas de lésions de petite taille dans lesquelles l'aiguille ne peut pas être suffisamment enfoncée pour prélever les cellules(Tyler *et al.* 2006).

1.2 Choix de la seringue et de l'aiguille:

Les PAF sont réalisées avec une aiguille de 21 à 25 G a et une seringue de 3 à 20 ml. Plus la consistance du tissu aspiré n'est molle, plus l'aiguille et la seringue doivent être petites.

Les aiguilles supérieures à 21 G a ne doivent pas être utilisées car elles ont tendance à aspirer le centre du tissu et fournissent des échantillons de cellules de mauvaise qualité pour la préparation cytologique.

De plus, les aiguilles plus larges sont souvent à l'origine d'une contamination sanguine plus importante. (Tyler *et al.* 2006).

La taille de la seringue utilisée pour réaliser l'aspiration dépend de la consistance du tissu prélevé. Les tissus mous, tels que les nœuds lymphatiques, peuvent souvent être aspirés à l'aide d'une seringue de 3 ml. Une plus grosse seringue doit être utilisée pour les tissus plus fermes, tels que les fibromes ou les épithéliomas spinocellulaires, afin de maintenir une aspiration adéquate pour pouvoir prélever suffisamment de cellules dans le tissu. Il est impossible de connaître la taille de seringue la plus adaptée avant l'aspiration des masses; par conséquent, une seringue de 12 ml correspond à la taille standard pour effectuer une cytoponction (Tyler *et al.* 2006).

1.3 Préparation du site :

La zone doit être préparée chirurgicalement lorsque des tests microbiologiques doivent être effectués ou lorsqu'une cavité corporelle (cavité péritonéale ou thoracique, articulation, etc.) doit être pénétrée. Dans les autres cas. La préparation de la peau est la même que celle qu'on effectue pour un vaccin ou une prise de sang. Un lavage à l'acole peut être réalisé pour nettoyer la zone. (Tyler *et al.* 2006).

1.4 Techniques d'aspiration:

La masse qui doit être aspirée est maintenue fermement pour permettre la pénétration de la peau et de la lésion et pour pouvoir contrôler la direction de l'aiguille.

L'aiguille, attachée à la seringue, est introduite dans le centre de la masse et une forte pression négative est réalisée en tirant sur le piston jusqu'aux trois-quarts du volume de la seringue.

Différentes zones de la masse doivent être prélevées, mais il faut éviter d'aspirer du matériel dans le cylindre de la seringue et de contaminer l'échantillon en aspirant le tissu entourant la masse.

Lorsque la masse est suffisamment grosse pour permettre à l'aiguille d'être redirigée et déplacée en son sein sans risquer d'en sortir, la pression négative est maintenue durant les mouvements de l'aiguille. Cependant, lorsque la masse n'est pas suffisamment grosse pour pouvoir rediriger et bouger l'aiguille sans risquer de sortir de la masse, la pression négative doit être relâchée durant la redirection et les déplacements de la seringue.

Après avoir prélevé différentes parties de la masse, la pression négative exercée sur la seringue est relâchée et l'aiguille est retirée de la masse et de la peau. (Tyler *et al.* 2006).

L'aiguille est ensuite ôtée et de l'air est aspiré dans la seringue. L'aiguille est refixée sur la seringue et le tissu contenu dans le cylindre de la seringue et à l'intérieur de l'aiguille est expulsé au centre de la lame porte-objet propre en appuyant rapidement sur le piston (Tyler *et al.* 2006).

Le matériel aspiré doit être expulsé en une seule fois en tenant l'extrémité de l'aiguille près de la lame. En s'éloignant de la lame, on risque d'obtenir de nombreuses petites gouttelettes qui sèchent avant d'avoir eu le temps d'étaler le prélèvement. (Tyler *et al.* 2006).

Les échantillons s'avèrent alors peu utiles au diagnostic car les cellules sont amassées et ne peuvent pas être évaluées. Les cellules doivent absolument être étalées en une seule couche selon les techniques de frottis décrites plus loin dans ce chapitre. Plusieurs lames doivent être réalisées dans la mesure du possible (Tyler *et al.* 2006).



Figure 1: Une technique par aspiration. L'aiguille est alors montée sur la seringue et introduite à la surface de la masse. Université de Toulouse - Ecole Nationale Vétérinaire @

1.5 Techniques de ponction sans aspiration :

Une technique de ponction a été décrite pour prélever des échantillons cytologiques." Cette technique donne de bons résultats pour la plupart des masses, en particulier pour les tissus hyper vascularisés.

La procédure est réalisée en plaçant une petite aiguille (environ 22 G) sur une seringue de 12 ml. Aspirer quelques millilitres d'air dans la seringue avant de réaliser le prélèvement (pour permettre d'expulser rapidement le matériel sur la lame de verre). Tenir la seringue au niveau ou près du centre de l'aiguille avec le pouce et l'index pour avoir le maximum de contrôle. La masse qui doit être aspirée est stabilisée avec la main libre et l'aiguille est insérée dans la masse.

La personne tenant l'aiguille la déplace rapidement d'avant en arrière, en essayant de garder le même trajet.

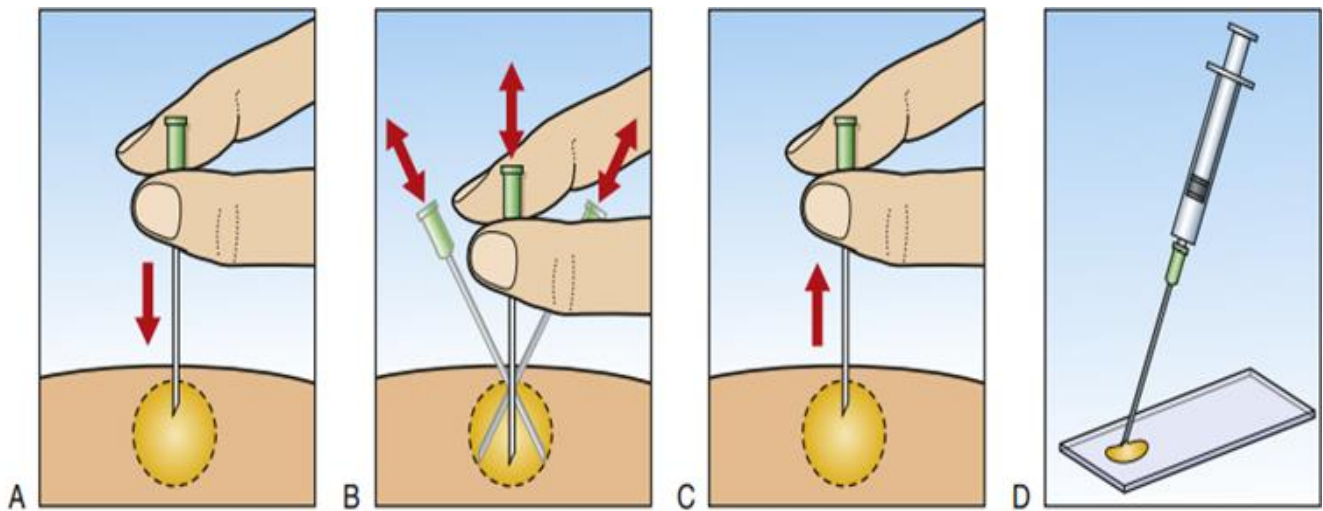
Cette technique permet de prélever les cellules en coupant et en exerçant une pression sur le tissu. Des précautions doivent être prises pour garder l'extrémité de l'aiguille au sein de la masse pour empêcher la contamination avec du tissu environnant.

L'aiguille est ensuite retirée et le matériel dans l'aiguille est expulsé sur une lame de verre propre et un frottis est réalisé selon l'une des techniques citées dans ce chapitre (Orell SR *et al.* 2005)..

Le fait d'avoir déjà de l'air dans la seringue permet de gagner du temps et de réaliser plus rapidement le frottis et d'éviter par conséquent le dessèchement des cellules prélevées. L'échantillon ne permet généralement de réaliser qu'un seul frottis (Orell SR *et al.* 2005).

Dans la mesure du possible, il est préférable de réaliser plusieurs prélèvements au niveau de différents sites au sein de la masse pour augmenter les chances d'obtenir du matériel diagnostique et un échantillon représentatif de la lésion.

Cette technique est également efficace pour réaliser des prélèvements échoguidés de lésions situées au sein de cavités corporelles: une seule main doit contrôler l'aiguille et l'autre main contrôle la sonde de l'échographe. Un meilleur contrôle de l'aiguille permet de diriger plus précisément l'aiguille(Orell SR *et al.* 2005).



La Figure 2 :présente une illustration en plusieurs étapes de la procédure de PAAF sans aspiration. L'étape A, l'aiguille est insérée dans le tissu cible. L'étape B, l'aiguille est déplacée d'avant en arrière à l'intérieur de la cible en variant l'angle. L'étape C, l'aiguille est retirée. L'étape D, l'aiguille est attachée à une seringue et l'échantillon est soufflé sur une lame. (Orell SR et al. 2005)

1.6 Les calques

Les calques peuvent être préparés à partir de lésions externes sur des animaux vivants ou à partir de tissus prélevés durant une chirurgie ou une autopsie.

Ils sont faciles à réaliser et nécessitent peu de contention, mais ils prélèvent moins de cellules que les raclages et sont plus contaminés (bactéries et cellules) que les aspirations.

Par conséquent, les calques de lésions superficielles ne mettent souvent en évidence que les infections bactériennes secondaires et/ou les dysplasies tissulaires d'origine inflammatoire. Leur usage est donc particulièrement limité pour diagnostiquer les néoplasies.

Les calques doivent être réalisés avant de nettoyer les ulcères. La lésion doit être préalablement nettoyée avec une compresse, humidifiée avec du liquide physiologique, avant de réaliser le calque ou le raclage. Une aspiration à l'aiguille fine du tissu sous-jacent doit également être réalisée.

Dans certains cas, comme par exemple lors d'une infection à *Dermatophilus congolensis* (streptothricose) ou à *Coccidioides immitis*, les calques provenant des lésions qui n'ont pas été nettoyées contiennent souvent beaucoup plus d'organismes que les calques provenant des lésions nettoyées et des échantillons collectés par PAF. Les calques réalisés sous la croûte de lésions engendrées par *D. congolensis* procurent généralement des résultats plus intéressants. Dans les autres

cas, les calques des lésions nettoyées peuvent fournir plus d'informations que les calques effectués sur des lésions non nettoyées (Orell SR *et al.* 2005).

Les calques réalisés sur des lésions cutanées nettoyées, des tissus prélevés durant une chirurgie ou une autopsie, du sang ou du liquide tissulaire doivent être prélevés à la surface de la lésion en la pressant légèrement avec du matériel propre absorbant (Orell SR *et al.* 2005).

Une quantité excessive de sang ou de liquide tissulaire empêche les cellules tissulaires d'adhérer à la lame de verre et sont à l'origine d'une mauvaise préparation cellulaire. De plus, la quantité excessive de liquide empêche les cellules de s'étaler correctement et de prendre la taille et la forme qu'elles ont généralement sur des frottis séchés à l'air(Orell SR *et al.* 2005).

1.7 Raclage

Les frottis de raclage peuvent être préparés à partir de tissus prélevés durant une autopsie ou une chirurgie ou à partir de lésions externes sur des animaux vivants. Le raclage permet de prélever beaucoup de cellules tissulaires et est, par conséquent, particulièrement intéressant lorsque la lésion est ferme et fournit peu de cellules (Orell SR *et al.* 2005).

Les raclages présentent comme principal inconvénient le fait que les échantillons sont difficiles à prélever et sont seulement superficiels. Par conséquent, les raclages des lésions superficielles ne reflètent que les infections bactériennes secondaires et/ou les dysplasies tissulaires d'origine inflammatoire. Leur utilisation dans le diagnostic des néoplasies est donc particulièrement limitée.

Les raclages sont préparés en tenant la lame du scalpel perpendiculaire à la surface de la lésion nettoyée et en ramenant plusieurs fois la lame vers soi. Le matériel collecté sur la lame est transféré au centre de la lame porte-objet et étalé, selon une ou plusieurs techniques décrites ci-dessous pour la préparation des frottis à partir des aspirations de masses tissulaires(Orell SR *et al.* 2005).

1.8 Écouvillonnages

Les frottis d'écouvillonnage ne sont généralement collectés que lorsque les calques, les raclages et les aspirations ne peuvent pas être réalisés, comme dans les cas de trajet fistuleux et de collections vaginales (Orell SR *et al.* 2005).

La lésion est écouvillonnée avec un écouvillon en coton, stérile et humidifié. L'écouvillon doit être humidifié avec du liquide isotonique stérile, tel que du NaCl 0,9%. L'humidification de l'écouvillon

permet de minimiser les dégâts cellulaires durant le prélèvement de l'échantillon et la préparation du frottis (Orell SR *et al.* 2005).

Si la lésion est elle même très humide, l'écouvillon n'a pas besoin d'être humidifié. A la suite du prélèvement, l'écouvillon doit être doucement roulé le long de la surface plane d'une lame porte-objet propre de microscope.

Il ne faut pas frotter l'écouvillon sur la lame au risque de provoquer de nombreux dégâts cellulaires !.(Orell SR *et al.* 2005).

2. Préparation de frottis :

Préparation de frottis à partir d'aspiration de masses tissulaire

2.1 Technique combinée

La procédure mixte consiste à expulser le matériel prélevé au centre de la lame de verre propre (lame de préparation). En gardant la lame de préparation sur une surface horizontale, solide et plate, tirer une autre lame (lame d'étalement) vers l'arrière selon un angle de 45 degrés avec la première lame afin qu'elle entre en contact avec environ un tiers de l'échantillon.

Puis faire glisser la lame d'étalement délicatement et rapidement vers l'avant, comme pour réaliser un frottis sanguin. (Tyler, *et al* 2006)

Puis placer une seconde lame d'étalement horizontalement sur le tiers restant de l'échantillon en formant un angle droit avec la lame de préparation. Seul le poids de lame d'étalement (qui est sur le dessus) doit permettre d'étaler le matériel, en résistant à la tentation de comprimer les lames manuellement. Garder la lame d'étalement sur un plan horizontal et la faire glisser doucement et rapidement le long de la lame de préparation. (Tyler, *et al* 2006)

Cette action permet de réaliser une préparation par « écrasement » sur un tiers de l'échantillon. Le tiers central de l'échantillon est laissé comme tel. Cette procédure permet d'obtenir un étalement modéré du premier tiers de l'échantillon. Si l'échantillon est constitué de tissu fragile, cette zone devrait contenir suffisamment de cellules intactes pour permettre de les évaluer.

Le dernier tiers de l'échantillon a été étalé grâce aux forces d'étirement. Si l'échantillon contient des amas de cellules qui sont difficiles à étaler, il devrait y en avoir suffisamment qui sont étalées dans le

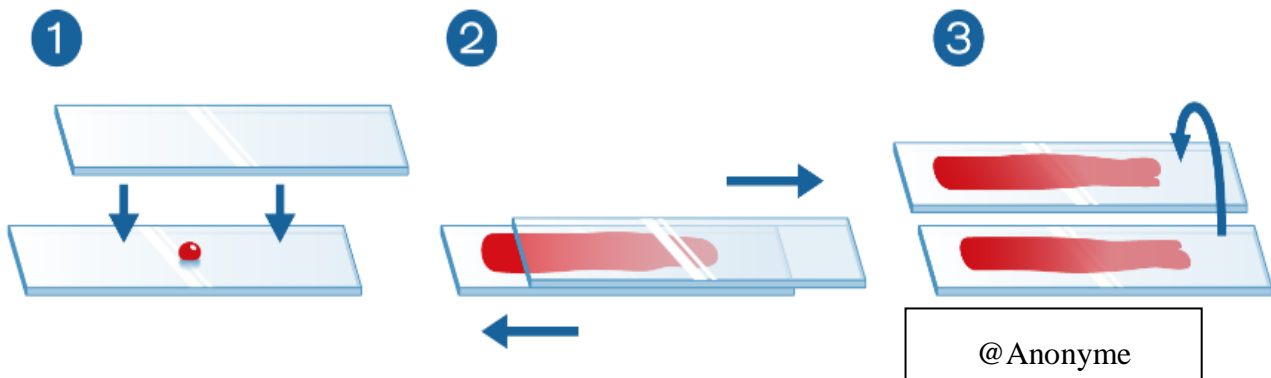
troisième tiers de la préparation. Si l'échantillon est de faible cellularité, le tiers central demeure plus concentré et représente la zone la plus efficace à étudier (Tyler, *et al* 2006)

2.2 Méthode par « écrasement »

Si le praticien est expérimenté, la méthode par écrasement peut fournir d'excellents frottis cytologiques. Un praticien moins expérimenté risque cependant d'obtenir des frottis cytologiques illisibles en raison d'un trop grand nombre de cellules rompues ou de l'étalement insuffisant de l'échantillon.

La méthode par écrasement est effectuée en expulsant l'échantillon au centre d'une lame et en plaçant une seconde lame d'étalement, horizontalement et à angle droit, sur la première lame (Fig.3). La seconde lame doit alors rapidement et délicatement glisser le long de la première lame.

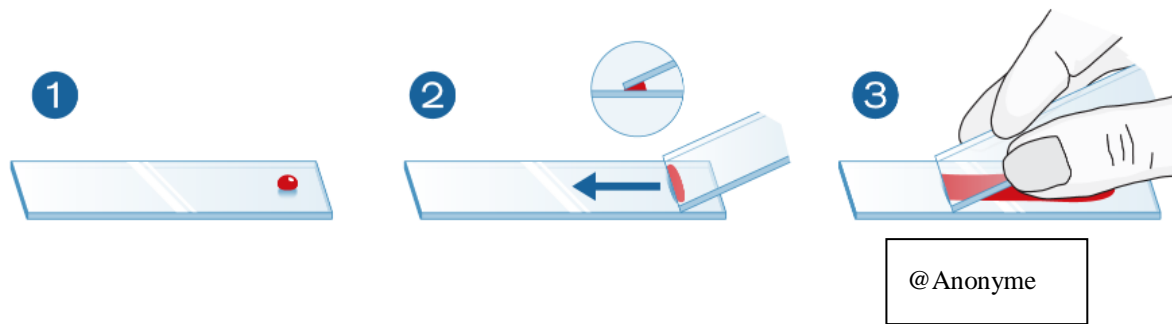
Si des petits amas de tissu sont présents et ne se dispersent pas lorsque la lame d'étalement est appliquée (dans le cas de frottis de moelle osseuse par exemple), il est possible de tapoter légèrement la lame vers le bas avec le doigt avant d'étaler l'échantillon (Tyler, *et al* 2006).



2.3 Technique du frottis sanguin

Le matériel obtenu suite à la cytoponction d'une lésion tissulaire se présente souvent sous la forme de cellules au sein d'un liquide épais ou semi-solide ou de sang.

La technique du frottis sanguin peut alors être réalisée. Après expulsion du matériel sur la lame, une seconde lame est tenue selon un angle de 30-40 degrés par rapport à la première. Cette lame est tirée vers l'arrière le long de la première jusqu'à ce qu'elle entre en contact avec l'échantillon. Lorsque le fluide s'étale vers les côtés, le long de la jonction entre les deux lames, la lame du dessus est rapidement et délicatement déplacée vers l'avant, en réalisant ainsi une préparation de type frottis sanguin. (Tyler, *et al* 2006)



3 .Préparation des frottis de liquides:

Les frottis cytologiques doivent être préparés immédiatement après avoir prélevé les liquides. Dans la mesure du possible, les échantillons de liquide doivent être prélevés dans des tubes d'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA).

Les frottis peuvent être préparés directement à partir du liquide fraîchement collecté et bien homogénéisé ou à partir du sédiment d'un échantillon centrifugé selon les techniques du frottis sanguin, du frottis à bord droit et selon la méthode par écrasement. La cellularité, la viscosité et l'homogénéité du fluide influencent le choix de la technique de frottis.

La méthode par écrasement permet souvent de mieux étaler les échantillons visqueux et les échantillons comprenant des petits amas de matériel plutôt que les techniques d'étalements sanguins et à bord droit.

La technique du frottis sanguin permet généralement d'obtenir des frottis bien étalés, avec une bonne cellularité, lorsqu'elle est effectuée sur des liquides homogènes contenant plus de 5 000 cellules/ul.

Après avoir été centrifugé, le surnageant est séparé du sédiment pour analyser sa concentration en protéines totales. Le sédiment est de nouveau dilué dans quelques gouttes de surnageant en tapotant délicatement la paroi du tube.

Une goutte du sédiment redilué est placée sur la lame et un frottis est réalisé selon la technique du frottis sanguin ou la méthode par écrasement. Plusieurs frottis doivent être effectués avec chaque technique dans la mesure du possible (Tyler, *et al* 2006).

Lorsque le fluide ne peut pas être concentré par centrifugation ou que la cellularité de l'échantillon centrifugé est trop faible, la technique de frottis à bord droit peut permettre de concentrer les cellules du frottis.

Une goutte de fluide est placée sur une lame de verre propre et est étalée selon la technique du frottis sanguin, mais la lame d'étalement doit être soulevée après avoir parcouru les trois quarts de la lame, formant ainsi une ligne de beaucoup plus forte concentration cellulaire que le reste de la lame. Malheureusement, une quantité excessive de liquide peut également demeurer au niveau de la ligne et limiter l'étalement correct des cellules. (Tyler, *et al* 2006)

4. Colorations:

4.1 Types de colorations:

Différents types de colorations sont utilisés pour réaliser des préparations cytologiques. Les deux types les plus couramment utilisés sont la coloration de type Romanowsky (coloration de Wright, coloration Giemsa, Diff-Quik) et la coloration Papanicolaou et ses dérivés, tels que le trichrome de Sano. Les avantages et les inconvénients de ces types de coloration sont discutés ci-dessous.

Les colorations de type Romanowsky étant plus pratiques, plus gratifiantes et plus facilement disponibles pour les praticiens, la suite de cette discussion ne traitera principalement que des préparations colorées selon l'une des méthodes Romanowsky. (Tyler, *et al* 2006)

4.1.1 Coloration de type ROMANOWSKY

Les colorations de type Romanowsky sont économiques, directement disponibles et faciles à préparer, maintenir et utiliser. Elles colorent très bien les organismes et les cytoplasmes cellulaires. Bien que les détails nucléaires et nucléolaires ne puissent pas être aussi bien observés avec les colorations de type Romanowsky qu'avec les colorations de type Papanicolaou, ils sont généralement suffisamment visibles pour permettre de différencier les néoplasies des inflammations et évaluer les cellules néoplasiques afin de mettre en évidence du point de vue cytologique la malignité de la tumeur (critère de malignité).

Les frottis colorés selon les méthodes Romanowsky doivent d'abord être séchés. Le séchage à l'air préserve partiellement (fixe) les cellules et les fait adhérer à la lame pour qu'elles ne tombent pas durant la coloration.

De nombreuses colorations de type Romanowsky sont disponibles dans le commerce, y compris Diff-Quik, DipStat et d'autres colorations de Wright. La plupart, voire toutes les colorations de type Romanowsky permettent de colorer les préparations cytologiques.

La coloration Diff-Quik ne crée pas de réaction métachromatique. Par conséquent, les granules de certains mastocytes ne se colorent pas et ces derniers peuvent alors être confondus avec des macrophages. Ce problème peut se poser lors de l'étude d'un mastocytome.

Les différences entre les colorations de type Romanowsky ne devraient pas poser de problème une fois que l'utilisateur s'est familiarisé avec une coloration en particulier. (Tyler, *et al* 2006)

4.1.2 Coloration au BLEU DE METHYLENE

La coloration au bleu de méthylène (BM) est un complément utile des colorations de type Romanowsky. Elle colore faiblement, voire pas du tout, les cytoplasmes mais donne d'excellents détails nucléaires et nucléolaires.

Les détails nucléaires des cellules peuvent être visualisés dans les amas de cellules car la coloration au BM colore mal les cytoplasmes.

Les érythrocytes ne se colorent généralement pas mais peuvent développer une teinte bleu pâle. Par conséquent, un nombre trop important d'érythrocytes n'empêche pas de visualiser les cellules nucléées. (Tyler, *et al* 2006)

4.1.3 Coloration PAPANICOLAOU

Les colorations de type Papanicolaou donnent d'excellents détails nucléaires et de fins détails cytoplasmiques. Elles permettent à l'examineur de voir à travers les couches de cellules dans les amas cellulaires et de très bien évaluer les changements nucléaires et nucléolaires.

Elles ne colorent pas le cytoplasme aussi bien que les colorations de type Romanowsky et ne mettent pas, par conséquent, aussi bien en évidence les modifications cytoplasmiques. Elles ne permettent également pas d'aussi bien visualiser les bactéries ou d'autres microorganismes.

Les colorations de type Papanicolaou comprennent de nombreuses étapes et prennent beaucoup de temps. Les réactifs sont difficiles à trouver, préparer et maintenir en pratique.

Les colorations Papanicolaou et leurs dérivés doivent fixer l'échantillon avant que les cellules ne soient déshydratées. Il faut donc sécher le frottis avec un fixateur cytologique ou le placer dans l'éthanol juste après la préparation.

Lorsque le frottis est placé dans l'éthanol, il doit être réalisé sur une lame avec un revêtement en protéines qui permet d'éviter aux cellules de tomber de la lame lorsque celle-ci est immergée. (Tyler, *et al* 2006).

5.Évaluation microscopique

Après coloration et séchage, le frottis est observé à faible grossissement (objectif x4-x10) pour déterminer les zones où il est correctement coloré et la présence de zones où la cellularité est localement plus importante, ainsi que des zones possédant des caractéristiques de coloration particulières.

Si le frottis n'est pas correctement coloré, il peut être recoloré mais la lame ne doit pas forcément être correctement colorée sur toute sa surface pour pouvoir être lisible. Par exemple, seuls les bords peuvent parfois être correctement colorés sur un frottis épais, sans pour autant gêner la lecture de la lame. (Tyler, *et al* 2006)

Toutes les zones caractérisées par une cellularité importante ou un aspect particulier doivent être gardées en mémoire pour une évaluation ultérieure. De plus, les éléments volumineux, tels que les cristaux, les corps étrangers, les parasites et les hyphes fongiques peuvent être observés au faible grossissement.

Si la qualité de la coloration est correcte et que toutes les zones caractérisées par une cellularité importante ou un aspect particulier ont été repérées, le grossissement est augmenté à l'objectif x10 ou x20. Ce grossissement permet généralement d'avoir une idée sur la cellularité et la composition cellulaire (cellules inflammatoires, cellules épithéliales, cellules fusiformes, etc.) du frottis ainsi que sur la taille des cellules (Tyler, *et al* 2006).

Les zones de plus forte cellularité et/ou avec un aspect particulier peuvent être examinées.

Le frottis est ensuite lu avec l'objectif x40. Une goutte d'huile peut être placée sur le frottis afin d'améliorer la résolution en diminuant la diffraction de la lumière ; une lamelle couvre-objet est ensuite placée sur la goutte d'huile. À ce grossissement, les cellules peuvent être examinées individuellement

et comparées les unes aux autres. Les nucléoles et l'aspect de la chromatine peuvent généralement être bien discernés (Tyler, *et al* 2006).

Avec de l'expérience, il est possible de voir la plupart des organismes visibles microscopiquement avec un objectif x40. Il peut cependant être nécessaire d'utiliser un objectif x100 (à immersion) pour identifier certains organismes ou inclusions et confirmer l'identité des micro-organismes observés avec l'objectif x40. Bien que plus coûteux, l'objectif x50 (à immersion) est plus adapté que l'objectif x40 pour observer les échantillons cytologiques. La résolution est meilleure sur les échantillons qui ne sont pas recouverts par une lamelle porte-objet et en utilisant une lentille x50 (à immersion). De plus, la lentille x40 est souvent contaminée par l'huile d'immersion déposée sur les lames et doit être nettoyée régulièrement pour pouvoir être efficace.

La morphologie des cellules (aspect de la chromatine nucléaire, nucléoles, etc.) est évaluée en détail avec un objectif x100 (à immersion). (Tyler, *et al* 2006)

6. Interprétation

Le tissu normal est généralement composé principalement de types de cellules matures, bien que certains organes tels que les tégumentaires contiennent normalement un épithélium basal immature.

Les cellules normales présentent une uniformité de taille et de forme cellulaire, nucléaire et nucléolaire. Le volume cytoplasmique est généralement élevé par rapport au noyau (Fig. 3).

Deux approches peuvent être mises en œuvre s'il est difficile de savoir si la lésion est inflammatoire ou néoplasique.

Premièrement, la lésion peut être traitée avec une antibiothérapie appropriée. Si la lésion régresse, elle est inflammatoire.

Si la lésion ne régresse pas, une autre aspiration peut être réalisée pour savoir si la composante inflammatoire s'est résorbée, facilitant ainsi l'examen du caractère néoplasique de la lésion.

Si la lésion ne régresse pas et que la différence entre la nature inflammatoire et néoplasique ne peut pas être faite cytologiquement, la lésion peut être ôtée chirurgicalement ou biopsie afin de réaliser un examen histopathologique. L'approche alternative consiste à retirer chirurgicalement la lésion sans mettre en place de thérapie auparavant et faire un examen histopathologique.

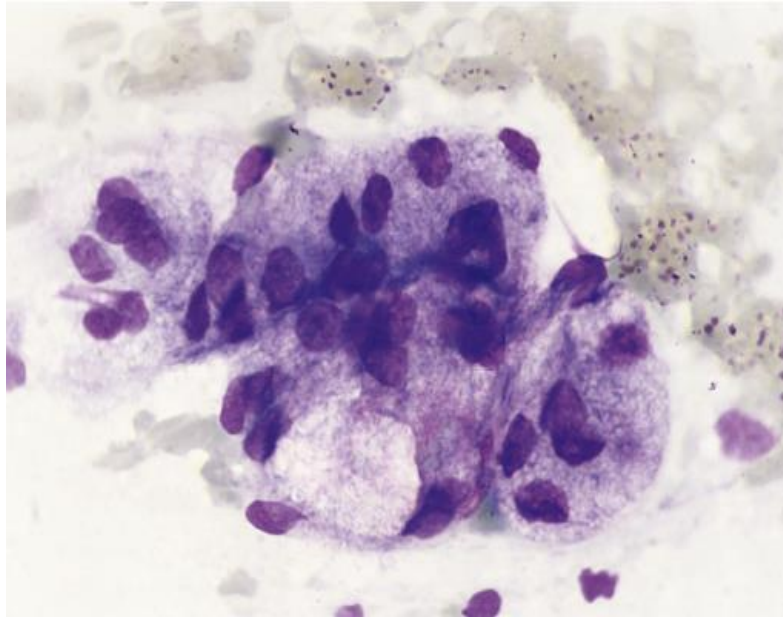


Fig3:Glande salivaire normale. Aspiration tissulaire chez un chien. La glande a des caractéristiques uniformes de taille nucléaire, de rapport nucléaire sur cytoplasmique et de contenu cytoplasmique. (Wright-Giemsa; huile HP.)(Rose E. Raskin 2016)

Deux approches peuvent être mises en œuvre s'il est difficile de savoir si la lésion est inflammatoire ou néoplasique.

Premièrement, la lésion peut être traitée avec une antibiothérapie appropriée. Si la lésion régresse, elle est inflammatoire.

Si la lésion ne régresse pas, une autre aspiration peut être réalisée pour savoir si la composante inflammatoire s'est résorbée, facilitant ainsi l'examen du caractère néoplasique de la lésion. Si la lésion ne régresse pas et que la différence entre la nature inflammatoire et néoplasique ne peut pas être faite cytologiquement, la lésion peut être ôtée chirurgicalement ou biopsie afin de réaliser un examen histopathologique. L'approche alternative consiste à retirer chirurgicalement la lésion sans mettre en place de thérapie auparavant et faire un examen histopathologique.

Les lésions dont la nature inflammatoire a été mise en évidence sont classifiées en différentes catégories d'inflammation.

Les lésions néoplasiques sont généralement décrites comme étant malignes ou bénignes et comme étant des tumeurs épithéliales, mésoenchymateuses (cellules fusiformes) ou à petites cellules rondes. Présente un algorithme qui facilite la lecture générale des préparations cytologiques.(Raskin 2016).

6.1 Inflammation

L'abondance et les proportions des cellules inflammatoires sont évaluées afin de déterminer la nature de la lésion inflammatoire. Les différents types de cellules inflammatoires comprennent les neutrophiles, les éosinophiles, les macrophages tissulaires, les macrophages épithélioïdes et les cellules inflammatoires géantes. Quelques mastocytes peuvent également être présents au cours de certaines réponses inflammatoires, comme par exemple les inflammations d'origine allergique.

Les différents types d'inflammation peuvent être classés en utilisant une terminologie qui indique la durée (aiguë, sub- aiguë, active-chronique, chronique) ou qui indique la nature du processus inflammatoire (purulent, suppuré, granulomateux, réaction d'hypersensibilité éosinophilique).

Les qualificatifs « bénigne », « modérée » et « marquée » peuvent être utilisés pour classer la gravité de la réaction inflammatoire. Le processus inflammatoire peut être classifié comme étant aigu si plus de 70% des cellules inflammatoires sont des neutrophiles, subaigu ou actif-chronique si 50-70 % des cellules inflammatoires sont des neutrophiles et 30-50% des cellules inflammatoires sont des macrophages, et chronique lorsque plus de 50% des cellules inflammatoires sont des macrophages.

La réponse inflammatoire peut être classée comme étant purulente ou suppurée si plus de 85 % des cellules inflammatoires sont des neutrophiles, granulomateuse si des cellules géantes inflammatoires et/ou de nombreux macrophages épithélioïdes sont présents et éosinophile ou allergique en présence de nombreux éosinophiles.

Les classifications purulente/suppurée, granulomateuse et éosinophilique/allergique ne s'excluent pas mutuellement. Par exemple, une inflammation purulente et granulomateuse se nomme inflammation pyogranulomateuse. (Tyler, *et al* 2006)

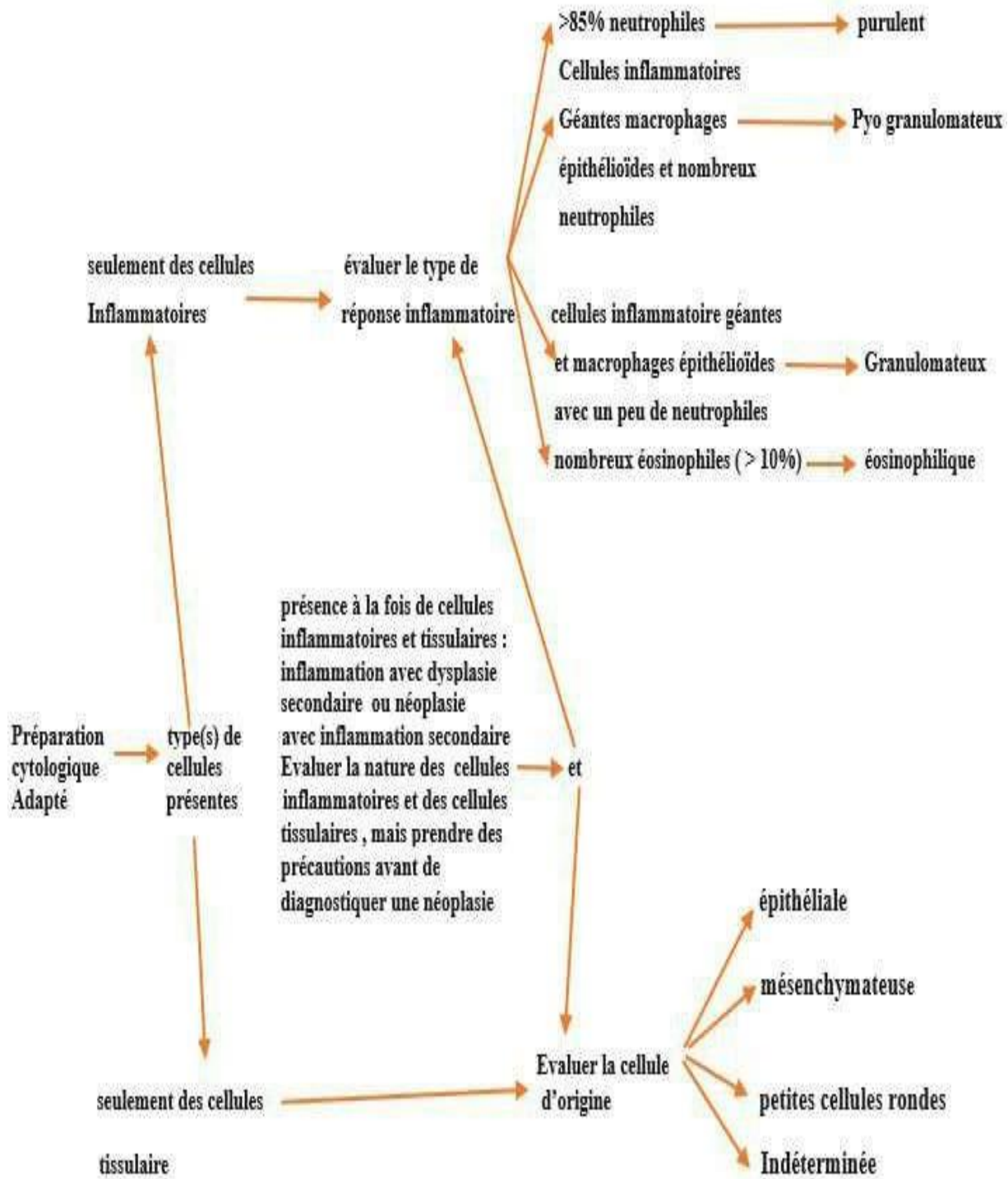


Figure 4: Algorithme pour faciliter l'examen de la préparation cytologique (Tyler, et al 2006)

Chapitre II :

Intérêt cytologique des ganglions lymphatiques

Les ganglions lymphatiques ont probablement été le premier tissu à être étudié par cytologie par aspiration. En 1904, la technique a été utilisée pour rechercher des organismes chez des patients humains atteints de trypanosomlastes (maladie du sommeil). La cytologie par aspiration des ganglions lymphatiques est de plus en plus préconisée en médecine humaine et vétérinaire en raison de son faible coût, du peu de temps requis et d'une sensibilité et d'une spécificité raisonnablement bonne. Chez l'homme, la cytologie a une sensibilité et une spécificité > 90 % pour différencier un processus malin d'une hyperplasie réactive. (Mary, *etal*2022)

L'hypertrophie ganglionnaire, qu'elle soit localisée ou généralisée, est la principale indication de la cytologie par ponction ganglionnaire. (Mary, *etal*2022)



Figure 5:Ganglion lymphatique préscapulaireHypertrophié d'un schnauzer miniature atteintd'une lymphadénite généralisée due à desMycobactéries. (Mary, et al 2022)

1. Les ganglions lymphatiques

En raison de leur rôle dans le drainage lymphatique, la prise en charge des antigènes et l'immunité cellulaire et humorale, les ganglions lymphatiques sont impliqués dans de nombreuses affections locales et systémiques.

La localisation sous – cutanée et superficielle de certains ganglions lymphatiques (mandibulaire, cervical superficiel, inguinal, poplité) permet de facilement détecter les dilatations, visuellement ou par palpation. La localisation de ces ganglions lymphatiques permet de réaliser facilement les aspirations à l'aiguille fine. (Duncan, 2006)

Les lymphadénomégalias constituent toutes une indication pour effectuer une cytoponction et un examen cytologique. Les ganglions lymphatiques drainant des zones tumorales peuvent également être aspirés afin de détecter la présence de métastases même s'ils ne sont pas dilatés. (Duncan, 2006)

2. Structure d'un ganglion lymphatique :

Structurellement, un ganglion lymphatique peut être divisé en trois régions plus ou moins concentriques :le cortex le para cortex et la médula, chacune d'entre elles contenant un microenvironnement particulier (figure 6)

- La couche la plus externe, le cortex, contient des lymphocytes (principalement des lymphocytes B), des macrophages et des cellules dendritiques folliculaires disposées dans des follicules, (Duncan, 2006)
- sous le cortex est situé le para cortex, qui est peuplé en grande partie par des lymphocytes T et qui contient aussi des cellules dendritiques ayant migré depuis les tissus vers le ganglion. (Duncan, 2006)
- La médula est la couche la plus interne, et correspond au site où les lymphocytes sortent du ganglion lymphatique par les vaisseaux lymphatiques efférents. Elle contient moins de cellules de la lignée lymphoïde, mais des plasmocytes qui secrètent activement des anticorps. (Duncan, 2006)

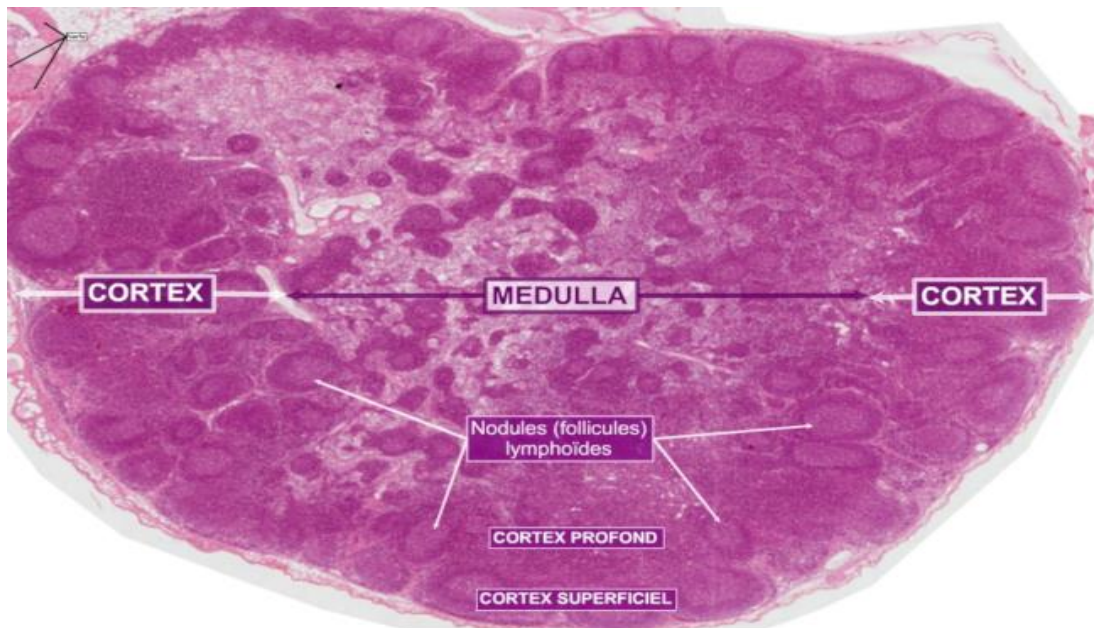


Figure 6 :Ganglion lymphatique normal montrant des structures dans le cortex et la moelle. (Mary, etal2022)

3. Identification des types de cellules et autres éléments lymphoïdes:

3.1 Petits lymphocytes:

Les petits lymphocytes ont une apparence similaire aux petits lymphocytes trouvés dans le sang. Les petits lymphocytes B et T ne peuvent pas être distingués les uns des autres sur la base de leur apparence. Étant donné que divers sous-ensembles de lymphocytes dans les ganglions lymphatiques ne peuvent pas être identifiés sur la base de la morphologie, les cellules lymphoïdes sont décrites en fonction de leur taille et de la présence ou de l'absence d'un nucléole visible dans le noyau.

Les petits lymphocytes sont légèrement plus petits qu'un neutrophile (7–10 μm) et le noyau est légèrement plus gros qu'un globule rouge, avec une chromatine dense.

Un nucléole n'est pas visible dans le noyau, mais les amas de chromatine peuvent être confondus avec des nucléoles.

Le cytoplasme est généralement peu abondant et se compose d'un rebord étroit autour du noyau. Certains préfèrent utiliser la taille du noyau plutôt que la taille des cellules et considèrent qu'un lymphocyte est petit si le noyau est plus petit qu'un neutrophile.

Le petit lymphocyte est le type de cellule primaire présent dans les ganglions normaux et hyperplasiques. (Mary, etal2022)

3.2 Lymphocytes intermédiaires :

Lymphocytes intermédiaire sont un diamètre nucléaire approximativement égal à deux globules rouges (9–15 µm), le noyau est légèrement plus gros qu'un neutrophile et ils ont une chromatine nucléaire moins dense. Ce sont probablement des centrocytes folliculaires et des cellules B de la zone marginale. (Mary, *etal*2022)

Grandes cellules lymphoïdes immatures avec des nucléoles apparents (anciennement appelés lymphoblastes):

La chromatine nucléaire est fine et diffuse, et un ou plusieurs nucléoles sont observés dans le noyau. Ils ont environ 2 à 4 fois la taille d'un petit lymphocyte et 1,5 à 2 fois la taille des neutrophiles.

Le noyau est plus gros qu'un neutrophile. Ils peuvent posséder un bord large ou étroit de cytoplasme, mais il est le plus souvent étroit (Figure 7).

Les grandes cellules lymphoïdes immatures sont présentes en petit nombre dans les ganglions normaux et ne dépassent généralement pas 20 % de la population cellulaire totale dans les ganglions lymphatiques réactifs.

Les blastes lymphoïdes sont soit des centroblastes folliculaires, soit des immunoblastes B ou T du paracortex et des cordons médullaires et sont difficiles à classer en fonction de leur aspect cytologique.

Les centroblastes ont un à trois nucléoles périphériques dans le noyau et peu de cytoplasme, tandis que les immunoblastes ont un nucléole situé au centre et une quantité modérée de cytoplasme.

Historiquement en médecine vétérinaire, le terme « lymphoblaste » a été utilisé pour toutes les cellules lymphoïdes immatures.(Mary, *etal*2022).

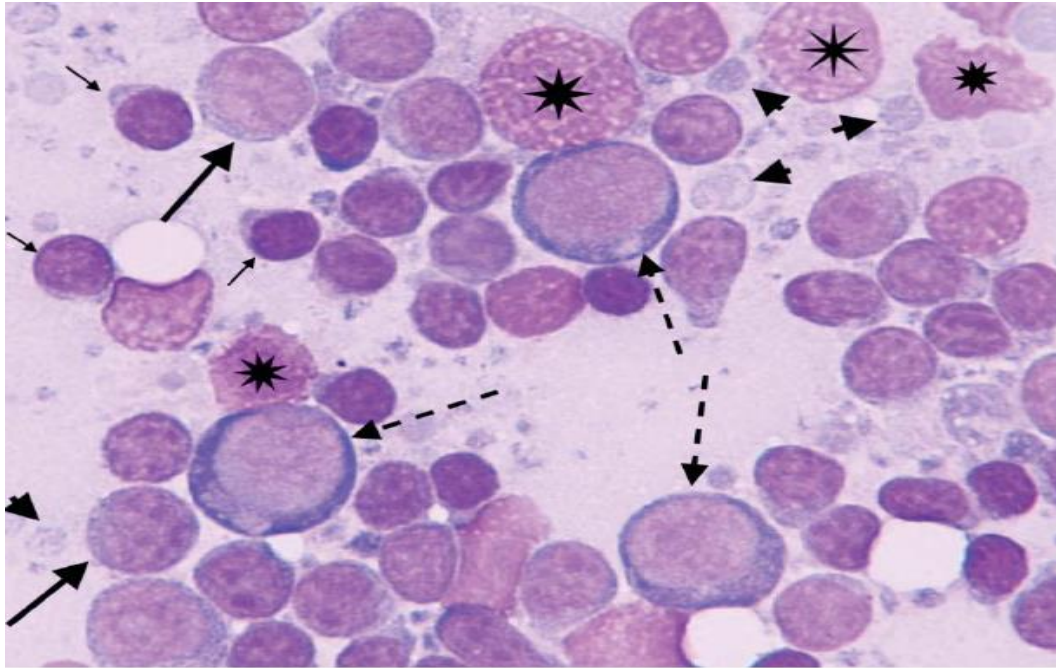


Figure 7: Ponction ganglionnaire d'un chien atteint d'une stimulation antigénique précoce. :

- Les petits lymphocytes prédominent (petites flèches).
- Des cellules lymphoïdes intermédiaires sont également présentes (grosses flèches pleines).
- Les grandes cellules lymphoïdes immatures sont indiquées par de grandes flèches en pointillés.
- De nombreux fragments cytoplasmiques sont intercalés entre les cellules (têtes de flèches).
- Les noyaux brisés sont courants dans les aspirations des ganglions lymphatiques et sont identifiés par des astérisques. Tache de Wright.

3.3 Cellules plasmatiques et plasmoblastes:

Cellules plasmatiques et plasmoblastes sont dérivés de lymphocytes B stimulés antigéniquement.

Le noyau des plasmocytes est excentré, le cytoplasme est généralement assez basophile, elles peuvent contenir des vacuoles, et une zone claire périnucléaire (zone de Golgi) est couramment présente.

Les cellules plasmatiques qui contiennent de nombreux paquets distincts d'immunoglobuline (corps de Russell) sont appelées cellules de MOTT ou cellules du corps de Russell et sont généralement observées dans les ganglions lymphatiques réactifs.

Les plasmoblastes, cellules B qui ont subi une transformation blastique, sont similaires aux autres blastes lymphoïdes immatures mais ont généralement plus de cytoplasme basophile et parfois vacuolé, une zone de Golgi peut être apparente et le noyau peut être plus excentrique.(Mary, *et al* 2022)

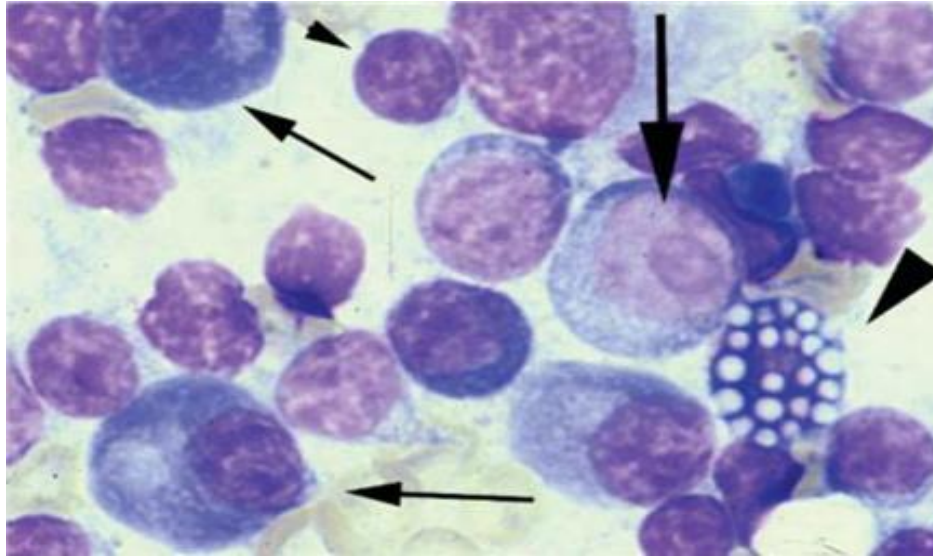


Figure 8 : Ganglion lymphatique réactif mis en évidence des :

- plasmocytes (petit flèches),
- unplasmoblaste (grosse flèche)
- une cellule de Mott (grosse pointe de flèche).
- De petits lymphocytes sont également présents (petite pointe de flèche).

3.4 Neutrophiles:

Les ganglions enflammés contiennent généralement de nombreux neutrophiles. L'aspect des neutrophiles peut sembler sain et intact si l'inflammation est non septique, tandis que des changements dégénératifs peuvent indiquer une inflammation septique.

Des phénomènes tels que la caryolyse (disparition de la coloration du noyau) et la caryorrhexis (fragmentation du noyau) peuvent être présents. Les bactéries sont mieux observées dans le cytoplasme des neutrophiles dans des portions minces de la préparation cytologique.(Mary, *etal*2022)

3.5 Macrophages:

Des macrophages peuvent être observés dans certaines conditions inflammatoires. Ces cellules sont phagocytaires, ont un cytoplasme abondant, généralement vacuolé, et peuvent contenir des débris cellulaires. Les macrophages sont parfois multinucléés.

Lorsque les macrophages développent certaines des caractéristiques des cellules épithéliales, telles qu'un cytoplasme abondant dépourvu de vacuoles, ils sont souvent appelés cellules épithélioïdes. Il faut veiller à ne pas confondre les cellules épithélioïdes avec les cellules de carcinome métastatique.(Mary, *etal*2022)

3.6 Éosinophiles:

Les éosinophiles dans les ganglions lymphatiques ressemblent aux éosinophiles dans le sang périphérique et sont associés à des réactions allergiques, des maladies parasitaires et des néoplasmes, notamment des lymphomes et des mastocytes.

L'inflammation éosinophile des ganglions lymphatiques est couramment observée chez les patients souffrant de dermatite ou d'allergie aux piqûres de puces (Mary, *etal*2022).

3.7 Mastocytes:

Les mastocytes sont des cellules rondes avec de nombreux granules basophiles dans le cytoplasme. Quelques-uns peuvent être vus dans les ganglions lymphatiques normaux.

Les ganglions lymphatiques drainant les lésions cutanées ont souvent une augmentation des mastocytes.

La présence de nombreux mastocytes, en particulier dans les agrégats, est évocatrice d'une néoplasie mastocytaire avec atteinte métastatique du ganglion lymphatique. (Mary*etal*.2022)

3.8 Cellules néoplasiques autres que les cellules lymphoïdes:

Des cellules néoplasiques autres que les cellules lymphoïdes, telles que les cellules de carcinome, peuvent être observées dans les ganglions lymphatiques vers lesquels les néoplasmes se sont métastasés Les cellules n'appartenant pas à la population normale du ganglion lymphatique peuvent généralement être vues à faible grossissement.

Les cellules épithéliales malignes sont généralement assez pléomorphes et grandes, présentant de nombreux critères de malignité. Les noyaux varient en taille et en forme et peuvent présenter un moulage nucléaire. (Mary, *et al*2022)

Les nucléoles sont souvent proéminents et multiples. Des figures mitotiques occasionnelles et des cellules multinucléées peuvent être observées. Le cytoplasme des cellules épithéliales malignes (carcinomes) se colore généralement assez basophile et peut contenir des vacuoles périnucléaire.

Les sarcomes métastasent aux ganglions lymphatiques moins fréquemment que les carcinomes. Les mastocytes métastasent généralement vers les ganglions lymphatiques et doivent être différenciés des mastocytes normaux qui peuvent être présents en petit nombre, en particulier dans les ganglions lymphatiques enflammés.

Les mélanomes malins métastasent aussi souvent aux ganglions lymphatiques. La maladie métastatique dans les ganglions lymphatiques est discutée plus en détail dans une section ultérieure de ce chapitre. (Mary, *et al*2022)

3.9 Fragments cytoplasmiques et noyaux libres :

De petits morceaux de cytoplasme d'environ 1 à 5 µm de diamètre peuvent être observés entre les cellules. Ces fragments ont été appelés corps lymphoglandulaires et sont une caractéristique des aspirations de tissu lymphoïde.

Ils ne doivent pas être confondus avec des plaquettes ou des organismes. Les cellules lymphoïdes sont fragiles et se rompent facilement, libérant du matériel nucléaire. Les noyaux libres sont roses et gonflés, et parfois un nucléole bleu clair peut être vu dans le noyau brisé.

Ces cellules brisées avec des nucléoles apparents ne doivent pas être confondues avec des cellules lymphoïdes immatures contenant des nucléoles. Si toutes les cellules sont brisées, le nœud doit être réaspiré. (Mary, *etal*2022)

3.10 Pigment :

L'hémوسидérine, un pigment résultant de la dégradation des globules rouges par les macrophages, est fréquemment observée dans les ganglions lymphatiques et peut être intracellulaire ou extracellulaire.

L'hémossidérine, la forme insoluble du fer de stockage, se colore de bleu-vert à noir avec la coloration de Wright et se trouve généralement dans les macrophages. La mélanine est généralement brun doré à noire mais peut être confondue avec l'hémossidérine. Si nécessaire, une coloration au bleu de Prusse peut être utilisée pour confirmer la présence de fer.

La mélanine peut être présente dans les macrophages dans les ganglions drainant les lésions pigmentées ou peut être observée dans les mélanocytes atteints de mélanome métastatique.

Il est parfois difficile de différencier les macrophages qui contiennent de la mélanine des mélanocytes ; la mélanine dans les macrophages se compose généralement d'amas homogènes dans les phagolysosomes, tandis que la mélanine dans les mélanocytes se compose de granules de mélanine individuels. (Mary *et al.*2022)

La coloration de Fontana Masson peut être utilisée pour identifier la mélanine.(Mary *et al.*2022)

4. Interprétation des résultats cytologiques:

En raison de son aspect pratique, La ponction – aspiration des ganglions lymphatiques est devenue populaire en médecine humaine au cours de ces dernières années. (Raskin 2016)

4.1 Ganglions lymphatiques normaux :

Les petits lymphocytes sont le type cellulaire prédominant dans les ganglions lymphatiques normaux, représentant 85 à 90 % des cellules observées. De très petits nombres de macrophages, de lymphocytes de taille moyenne, de grandes cellules lymphoïdes immatures contenant des nucléoles, de plasmocytes et de neutrophiles peuvent être présents. Une étude sur la cytologie normale des ganglions lymphatiques canins a rapporté un pourcentage médian de 1,4 % de neutrophiles, 2,0 % d'éosinophiles et 1,4 % de macrophages. (Raskin 2016)

Les plasmocytes représentent moins de 4 % des cellules d'un ganglion lymphatique canin normal. Les lymphocytes intermédiaires représentent environ 3 à 4 % des cellules dans les ganglions lymphatiques canins normaux. (Raskin 2016)

4.2 Cytologie d'un ganglion lymphatique réactionnel :

Trois processus généraux sont à l'origine de lymphadénomégalies : l'hyperplasie, l'inflammation et la néoplasie. (Raskin 2016)

4.2.1 Ganglion lymphatique réactif ou hyperplasique:

Ganglion lymphatique réactif ou hyperplasique L'hypertrophie d'un ganglion lymphatique dans cette condition est due à toute réponse antigénique locale ou généralisée, qui peut inclure une infection, une inflammation, une maladie à médiation immunitaire ou une néoplasie d'une zone qui se draine dans le ganglion lymphatique. (Raskin 2016)

Du point de vue cytologique, il n'y a pas de différence évidente entre un ganglion lymphatique normal et un ganglion lymphatique hyperplasique. Cependant, la différenciation est d'une importance relative, car la plupart des ganglions lymphatiques sont plus ou moins réactifs.

Lorsque l'aiguille traverse les centres folliculaires, la zone paracorticale, les cordons médullaires et les sinus médullaires, on obtient une population cellulaire hétérogène.

Le petit lymphocyte constitue le type cellulaire prédominant à la fois dans les ganglions lymphatiques normaux et hyperplasiques. Le nombre de plasmocytes peut être nul ou représenter plus de 5-10% de la population dans certaines zones du frottis. Ils sont parfois remplis de vacuoles (corps de Russell). (Raskin 2016)

Le nombre de lymphocytes de taille moyenne ou de grande taille peut être augmentée; ils peuvent représenter jusqu'à 15% de la population cellulaire totale en cas d'hyperplasie.

Des plasmocytes immatures ou des lymphocytes transformés, de taille moyenne ou de grande taille, peuvent également être observés.

Les macrophages peuvent parfois représenter plus de 2 % de la population, en particulier en cas d'hyperplasie des macrophages dans les sinus.

Tous les ganglions lymphatiques dilatés présentant les caractéristiques cytologiques citées ci-dessus doivent être considérés comme hyperplasiques, car un ganglion lymphatique normal n'est jamais dilaté. (Raskin 2016)

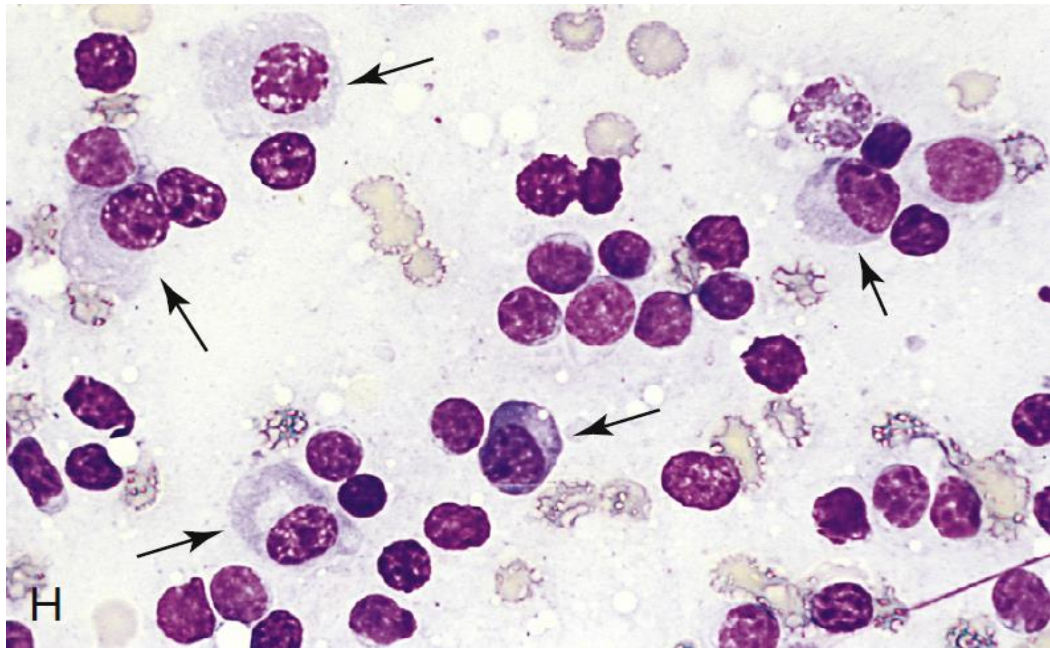


Figure 9 :De nombreux petits lymphocytes sont présents ainsi que plusieurs plasmocytes bien différenciés (flèches). Un nombre plus élevé de lymphocytes de taille moyenne que prévu dans les ganglions lymphatiques normaux est noté au centre. (Wright ; huile HP.)(Rose &Raskin 2016)

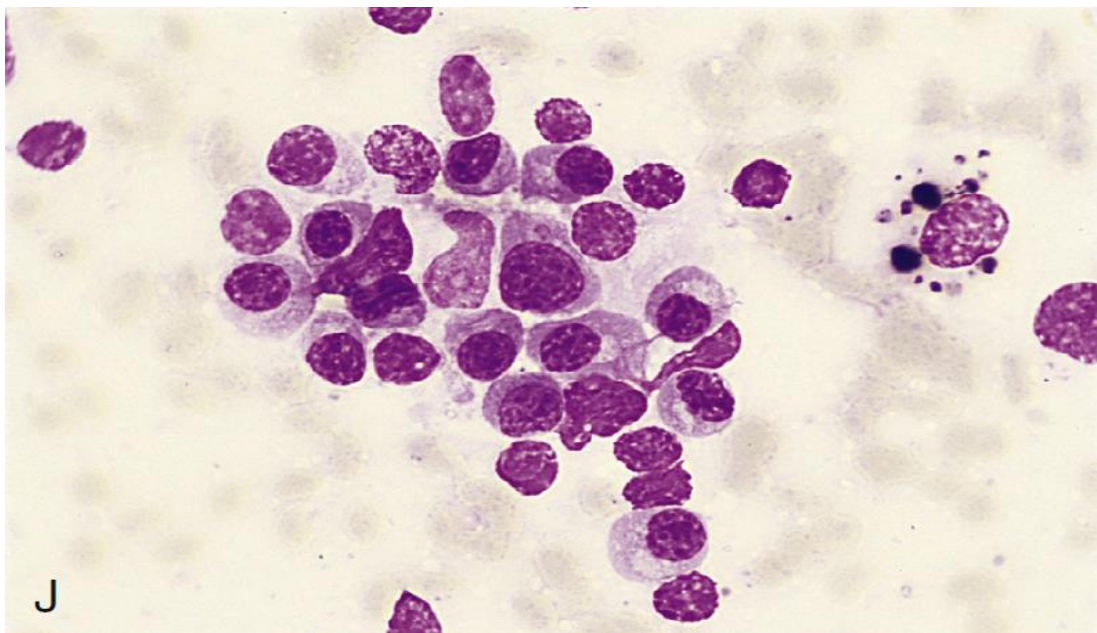


Figure 10:ganglion lymphatique réactif. (Empreinte tissulaire chez un Chien). Notez l'augmentation marquée du nombre de plasmocytes composés de divers degrés de différenciation. Un macrophage chargé d'hémosidérine est présent à droite du champ. (Romanowskyaqueux; huile HP.)(Rose &Raskin 2016).

4.2.2 Lymphadénite:

La population cellulaire inflammatoire prédominante catégorise le type d'inflammation dans un ganglion lymphatique.(Raskin 2016)

4.2.2.1 Lymphadénite neutrophile:

La lymphadénite purulente ou suppurée (Figure 11) implique plus de 5 % de neutrophiles et peut être associée à des affections bactériennes, néoplasiques ou à médiation immunitaire. (Rose &Raskin 2016).

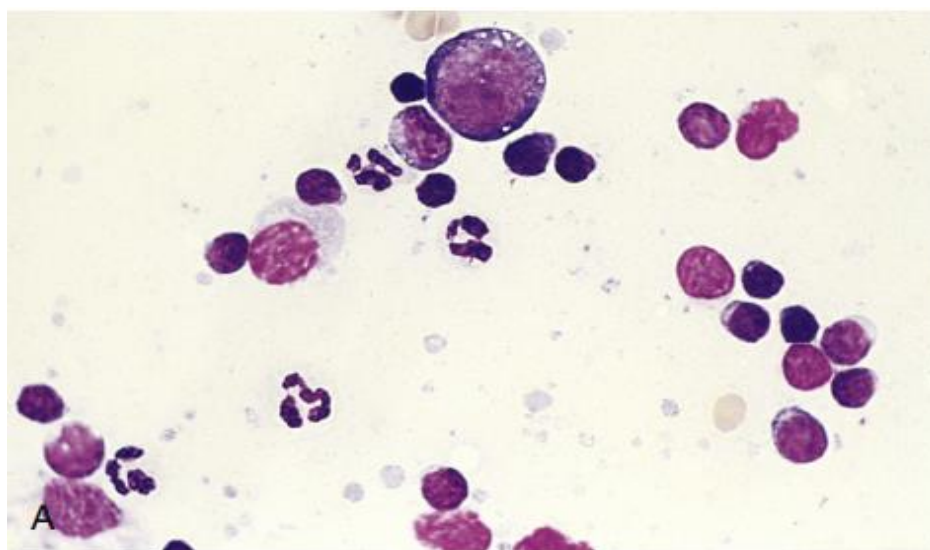


Figure 11:Lymphadénite neutrophile. Aspiration tissulaire. Chat. Quatre neutrophiles non dégénérés sont présents ainsi que des lymphocytes petits et moyens. Un grand lymphocyte est également noté. (Wright ; huile HP.)(Rose &Raskin 2016)

4.2.2.2 Lymphadénite à éosinophiles:

Les éosinophiles supérieurs à 3 % de la population de cellules nucléées sont souvent liés à une hypersensibilité aux piqûres de puces, à une dermatose éosinophile féline (Fig.12), à un syndrome hyperéosinophile, à une fibroplasie sclérosante gastro-intestinale à éosinophiles et syndrome paranéoplasique pour tumeur mastocytaire , ainsi que certains lymphomes (Thorn *et al.* 1999).

4.2.2.3 Lymphadénite histiocytaire ou pyogranulomateuse:

L'inflammation des ganglions lymphatiques peut se présenter de différentes manières.

On peut observer une augmentation du nombre de macrophages, appelée lymphadénite histiocytaire, ou un mélange de neutrophiles et de macrophages épithélioïdes, appelé lymphadénite pyogranulomateuse (Fig 13). Il est important de noter que la présence d'un granulome est mieux appréciée sur des coupes histologiques. (Raskin 2016)

Ces réponses inflammatoires peuvent être associées à diverses affections, notamment les infections fongiques systémiques, d'autres infections fongiques (Walton et al 1994), la mycobactériose (Grooters et al., 1995), la leishmaniose, l'intoxication par la douve du saumon, la protothécose, la pythiose, la vascularite et l'hémosidérose . Les maladies fongiques systémiques comprennent la blastomycose, la cryptococcose (Lichtensteige&Hilf, 1994), l'histoplasmosse et la coccidioïdomycose. (Raskin 2016)

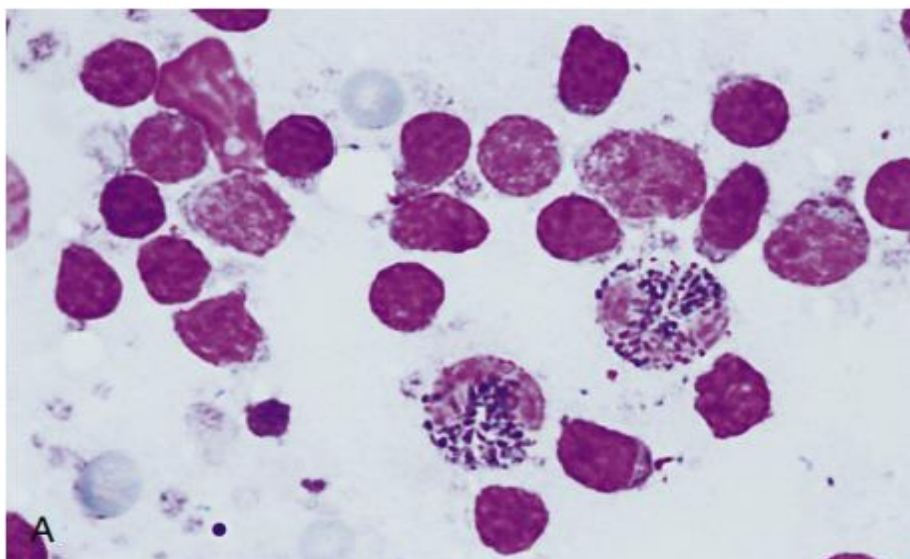


Figure 12:Lymphadénite à éosinophiles. Aspiration tissulaire Chat. Deux éosinophiles sont représentés dans une population de petits lymphocytes provenant d'un animal atteint d'un ulcère buccal de rongeur. (Wright-Giemsa ; huile HP.)(Rose &Raskin 2016)

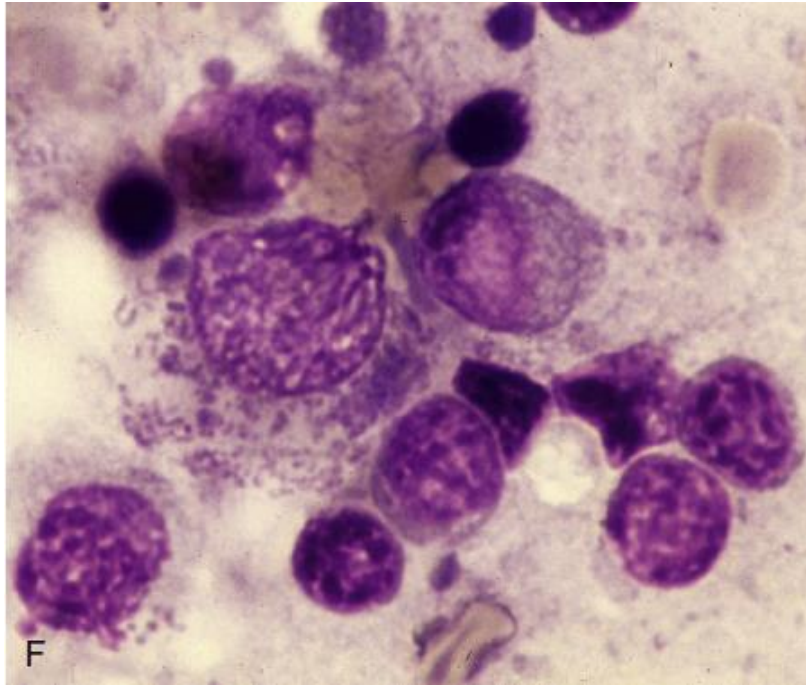


Figure: 13:aspiration des ganglions lymphatiques. Les ganglions lymphatiques présentent un nombre accru de lymphocytes moyens et de plasmocytes en plus de la réponse inflammatoire. Notez l'organisme rickettsial dans le macrophage. (Romanowsky : huile HP.) (Raskin 2016)

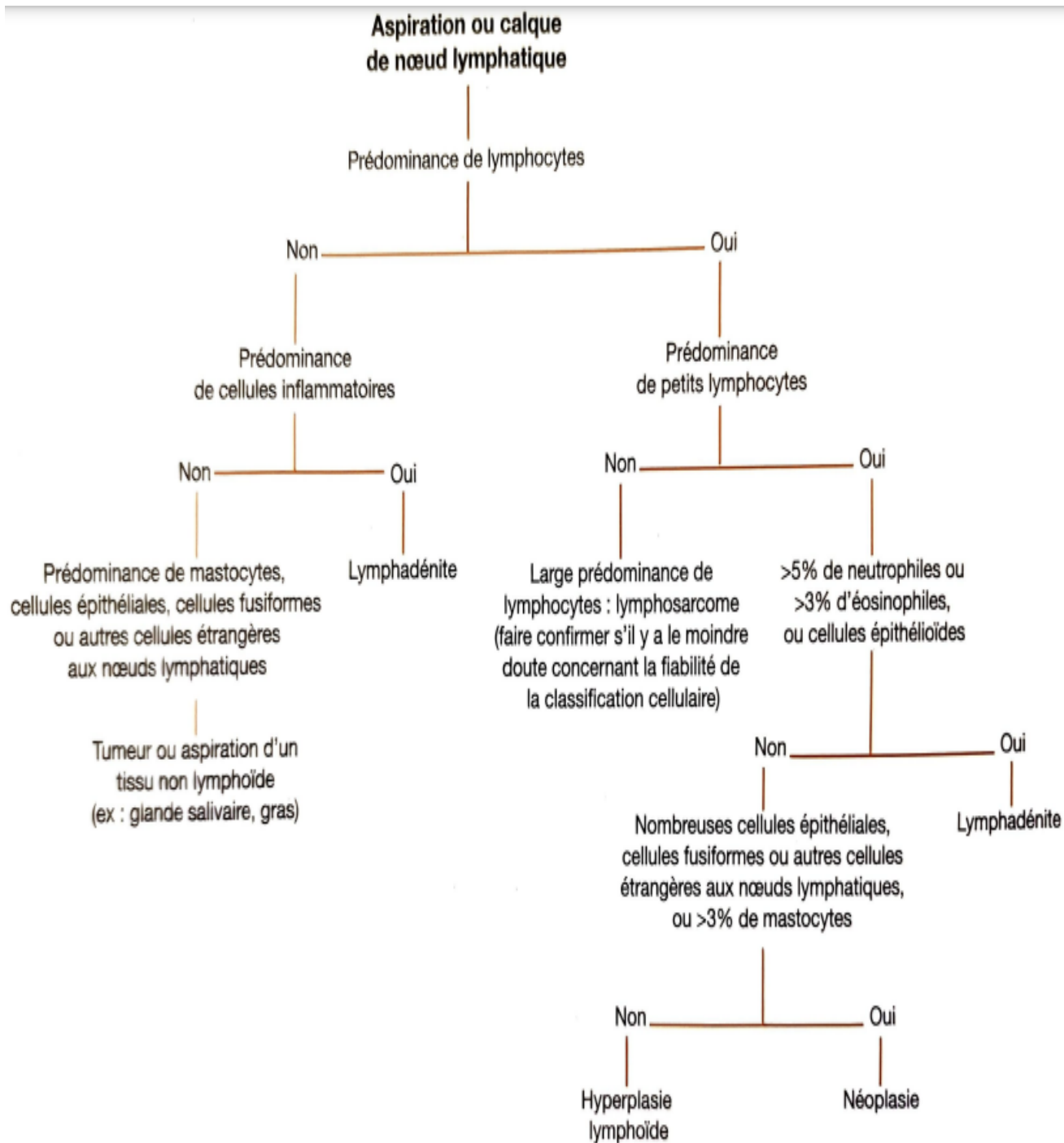


Figure 14 :algorithme facilitant l'évaluation des frottis d'aspiration et de calque du nœud lymphatique(Tyleret al.2006) .

*Chapitre III : Les
Principaux protozoaires
chez le chien*

1. Principal protozoaire chez le chien

1.1 Parasites observable dans le plasma

Trypanosomiasis canines

1.1.2 Définition

Protozooses infectieuses dues à la présence dans le sang (ou la lymphe) et à l'action pathogène des parasites du genre *Trypanosoma* transmis via vecteur arthropodes :

- *T. cruzi* => Maladie de Chagas – Zoonose

Maladie américaine transmise par une punaise réduvidé: la contamination se fait via les fèces de la punaise déposées à proximité de la piqûre (transmission transcutanée). On a une polyadénomégalie, une anémie, une affection cardiaque, un méga œsophage.

- *T. evansi*

Maladie africaine et asiatique, non zoonotique mais peu spécifique, transmise par les muscidés

- *T. brucei*, *T. congolense*

Maladie africaine transmise par les glossines. (Dzvet360 S10mladies parasitaires des carnivores domestiques)

1.1.3 Identification

Les trypanosomes sont des protozoaires sanguins capables d'infecter différents hôtes vertébrés. Les formes morphologiques d'ordre, *Trypanosomatidae* peuvent être différenciées par la présence ou l'absence de membrane ondulante et flagelle, et l'emplacement du kinetoplast par rapport au noyau (Sepposaari *et al* 2019).

1.1.4 Cycle évolutif

Les espèces *Trypanosoma* ont généralement besoin d'un insecte vecteur dans leur cycle de vie. L'hôte vertébré est infecté lorsque les insectes infectés par la salive ou les pièces buccales contaminées sont en contact avec lui pendant la prise de sang. En Afrique, les mouches piqueuses (mouches *tsé-tsé* du

genre *Glossina*) et en Amérique, les espèces de triatomines hémiptères (punaises embrassantes) agissent comme vecteurs des trypanosomes canins.

En outre, les infections non vectorielles ont été démontrées chez les chiens de manger de la viande, des organes ou du sang infectés. Une punaise triatomine défèque pendant la prise de sang et passe des trypomastigotes dans ses selles (Sepposaari *et al* 2019).

Chez le chien, les trypomastigotes peuvent infecter divers types de cellules et se transformer en amastigotes intracellulaires. Les amastigotes se multiplient par fission binaire dans les tissus infectés.

Les amastigotes se transforment encore en trypomastigotes et quittent la cellule pour aller au sang.

La mouche tsé-tsé ou triatomine reçoit l'infection par l'ingestion des trypomastigotes pendant la prise de sang.

En circulation. Les trypanosomes africains sont présents sous deux formes : minces et moites (Sepposaari *et al* 2019).

1.1.5 Importance

Les chiens ont deux types de trypanosomiase : africain (Surra) et américain (Chagas), qui sont tous deux zoonotiques.

D'autres espèces de *Trypanosoma* peuvent infecter les chiens aussi, mais ils sont non pathogènes pour les chiens avec un statut immunologique normal.

Dans la trypanosomiase, le tableau clinique dépend de la souche du parasite, de l'âge de l'hôte et de l'état immunologique, et d'autres facteurs. Les signes cliniques apparaissent environ 1 semaine à 2 mois après l'infection, la fièvre, la faiblesse, l'œdème et l'anémie étant les signes les plus courants.

Par exemple, *T. brucei*, *T. evansi* a été signalé pour causer une évolution rapide de la maladie chez les chiens, conduisant à la mort dans une semaine ou des semaines (Sepposaari *et al* 2019).

L'œdème des parties inférieures du corps et les hémorragies pétéchiales et la paralysie peuvent se produire en plus des signes généraux (Sepposaari *et al* 2019).

Trypanosoma cruzi implique particulièrement les jeunes chiens d'environ 6 mois, et les symptômes cardiaques et respiratoires sont typiques.

Des décès par insuffisance cardiaque, causés par des dommages cellulaires induits par des parasites, se produisent.

Phase aiguë prend environ 2 mois, et après que, si le chien survit, la phase chronique avec arythmies, dilatation myocardique, et l'insuffisance cardiaque droite suit (Sepposaari *et al* 2019).

1.1.6 Diagnostic

Les signes cliniques de la trypanosomiase sont communs à plusieurs autres maladies systémiques et peuvent impliquer plusieurs organes.

Pour un diagnostic définitif, un frottis sanguin (de préférence coloré Giemsa) devrait être dessiné pour visualiser les formes trypomastigotes de *Trypanosoma*.

Malheureusement, cette méthode est insensible en raison du faible nombre de parasites dans le sang.

Les méthodes sérologiques de détection d'anticorps ou d'antigènes ont été conçues pour des diagnostics plus sensibles de la trypanosomiase. (Sepposaari *et al* 2019).

Ces derniers, manquent de spécificité, en raison de réactions croisées entre différentes espèces de *Trypanosoma* et même avec *Leishmania*.

La méthode de PCR également utilisés. En particulier pour la confirmation du diagnostic et l'identification des espèces *Trypanosoma* (Sepposaari *et al* 2019).

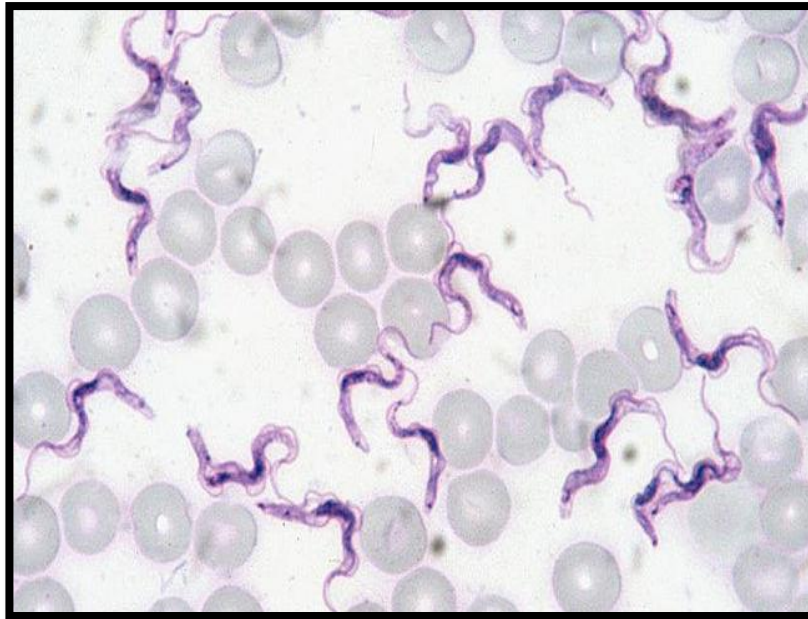


Figure 15 : la forme amastigote de Trypanosoma evansi dans un frottis sanguin (@ anonyme)

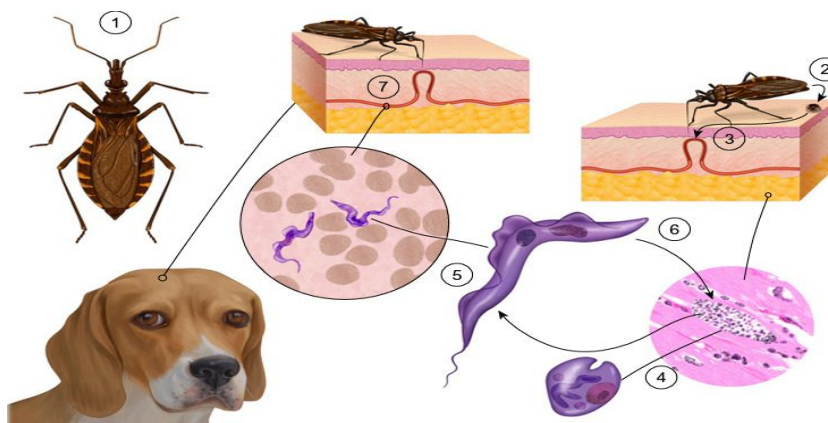


Figure 16: cycle évolutif du Trypanosoma cruzi (Sepposaari et al 2019).

1.1.7 Traitement et prévention

- ✓ Diminazene acéturate a été montré pour être un traitement efficace pour T. evansi chez les chiens, avec une dose sous-cutanée de 7 mg/kg le premier jour et de 3,5 mg/kg le lendemain.

Le problème avec le traitement est que la maladie a tendance à se reproduire et le traitement doit ensuite être répété ou prolongé.

D'autres médicaments ont été testés chez les chiens aussi, mais les effets secondaires ont été trop graves. (Sepposaari *et al* 2019).

Généralement, la maladie peut être contenue par le contrôle des vecteurs.

- ✓ Pour la prophylaxie, plusieurs types d'insecticides peuvent être utilisés. Il a été démontré que les drogues du groupe isoxazoline sont efficaces pour tuer les vecteurs de triatomine.

Les chiens devraient également être empêchés de manger du matériel infecté possible.

Des essais de vaccins ont été réalisés avec des chiens. Avec des résultats prometteurs; cependant, à ce jour. Aucun vaccin commercial n'est disponible. La motivation à vacciner les chiens est généralement en fonction de leur rôle de réservoir dans la trypanosomiase humaine. (Sepposaari *et al* 2019).

2. Le parasite du globule

(Babésiose canines)

2.1 Définition

Ce sont des protozooses infectieuses, inoculables, non contagieuses, spécifiques du chien (bien qu'il existe une transmission inter-espèces rarissime) et non zoonotiques, dues à l'action pathogène et à la multiplication dans les globules rouges d'apicomplexa *babésiidés* : principalement *Babesia canis*, transmis obligatoirement par des tiques ixodidées du genre *Dermacentor* (*Babesia vogeli* est transmise par des tiques ixodidées du genre *Rhipicephalus*) accessoirement in utero ou par transfusion, caractérisées cliniquement par un syndrome pyrétique et hémolytique. On l'appelle également piroplasmose. On les distingue des babésiose émergentes dues à des micro-babésies. (Mehlhorn *et al.* 1980).

A retenir :

- Parasite exclusif du GR (intra érythrocytaire)
- Transmission par les tiques
- Signes cliniques résultant de l'hémolyse
- Diagnostic à l'aide de frottis sanguins ou de tests immunologiques.

- Le traitement repose sur les espèces des *Babesia*; la lutte contre les tiques est une mesure préventive importante.

Ce sont des maladies fréquentes et potentiellement graves à évoquer systématiquement lors de fièvre et/ou d'anémie (Sepposaari *et al* 2019).

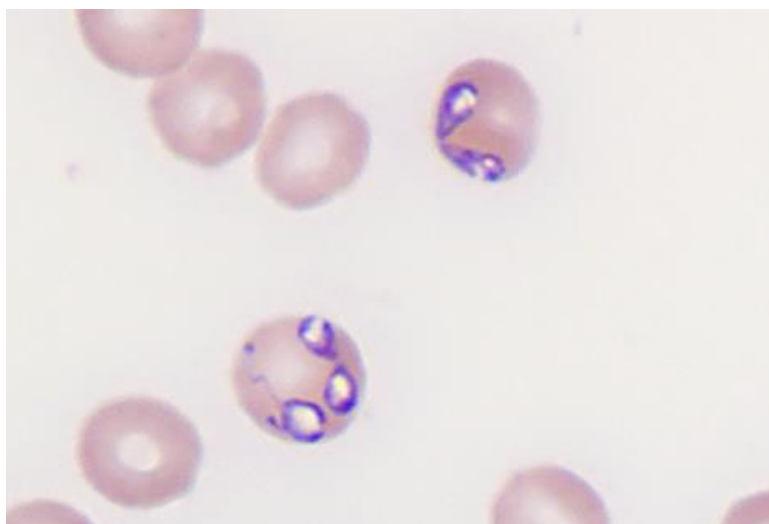


Figure 17: *Babesia canis* intra érythrocytaire. Frottis sanguin coloré au Giemsa. (Sepposaari *et al* 2019).

2.2 Les parasites

Babesia sont des protozoaires trouvés dans les globules rouges et appartiennent à l'ordre *Piroplasmida*. Les piroplasmes dits macro babésies, *B. canis*, *B. rossi*, et *B. vogeli*, sont en forme de goutte, environ 4-5 μ m de diamètre, et communément trouvés en paires. (Schnittger *et al.* 2012)

Les petits piroplasmes canins, *B. gibsoni*, *B. annae* (également connus sous le nom de *B. microti* et de *Theileria annae*), et *B. conradae*, sont ronds ou ovales, de moins de 2 μ m de diamètre, et se retrouvent habituellement seuls. (Schnittger *et al.* 2012)

Rappels sur le cycle et différents types de babésies:

Il existe 3 espèces de grandes babésies transmises par des espèces de tiques différentes : la répartition, l'épidémiologie et la clinique sont différentes :

- Grande babésies-diamètre > 3-4 μ m (rayon de l'hématie)
 - *Babesia canis* responsable des formes cliniques modérées à sévères, transmise par *Dermacentor reticulatus*.

On a une variété antigénique de souches associées à des tableaux cliniques et des pouvoirs pathogènes différents, induisant des immunités différentes.

- *Babesia vogeli* transmise par *Rhipicephalus sanguineus* (tique méditerranéenne) : forme frustrée La tique africaine. *Babesia rossi*, transmise par *Haemaphysalis sp*, est responsable d'une forme gravissime. (Schnittger et al. 2012)
- Petites babésies-diamètre < 3µm :

Il faut retenir qu'il y en a en Italie et en Espagne. Leur existence actuelle en France est contestée mais les tiques vectrices ont été retrouvées dans le pays, une transmission future n'est donc pas invraisemblable.

- *Babesia gibsoni* transmise par *R. sanguineus*, décrite en Espagne et Italie
- *Babesia conradae* espèce californienne transmise par *R. sanguineus*.
- *Babesia microti*-like = *Theileria annae* = *Babesia vulpes* transmis par *Ixodes hexagonus*, *I. ricinus*..... décrite en Espagne. (Schnittger et al. 2012)

2.3 Le rôle des tiques

Une amplification du pouvoir infectant (Mehlhorn et al. 1994) :

- à partir de l'infection d'une tique on obtient plusieurs dizaines à plusieurs centaines de tiques infectantes : il y a alors création d'un foyer.
- Il faut retenir que c'est essentiellement la tique adulte qui transmet le parasite. L'hôte définitif est la tique et elle joue le rôle de réservoir.
- La répartition des espèces de *Babesia* dépend des espèces des tiques qui sont présentes dans la région par exemple (*Rhipicephalus sanguineus* en AFRIQUE). (Sepposaari et al 2019).

2.4 L'action pathogène du parasite

Babesia canis est un parasite spécifique, infectieux, exclusivement intra-érythrocytaire.

Le phénomène d'hémolyse mécanique due à la multiplication intra-érythrocytaire des *Babesia*

On observe ainsi une hémolyse d'ordre immunologique : il y a libération d'Ag parasites qui se fixent sur la paroi des globules rouges. Le globule rouge sera alors antigéniquement différent et donc lysé

par les AC, qui augmente la phagocytose des GR, donc aggravant ainsi l'hémolyse mécanique intravasculaire. (Otsuka *et al.* 2001, 2002)

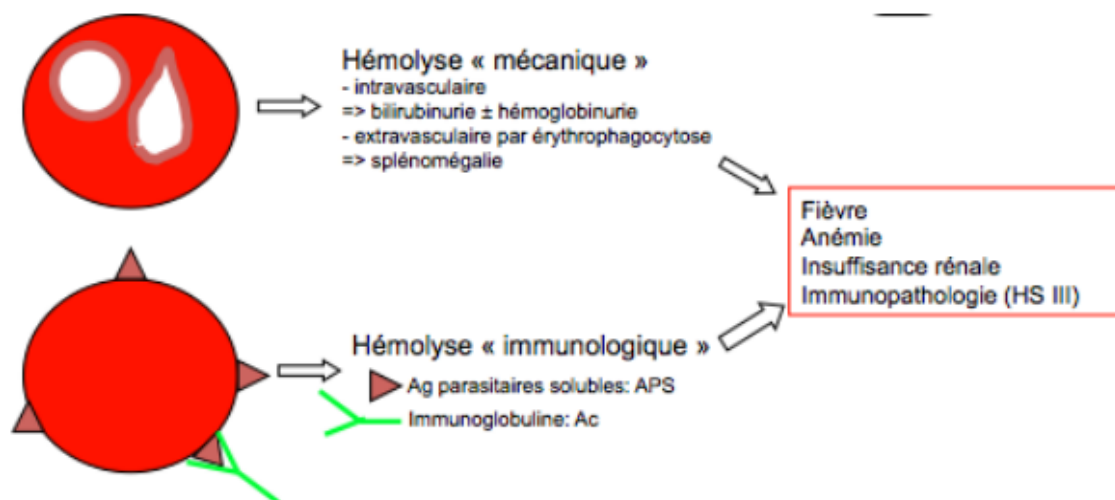


Figure 18 : les mécanismes d'hémolyse(@anonyme)

Les mécanismes physio pathologiques s'expliquent par la cyto adhérence et la séquestration. L'oblitération des capillaires due à une perte de maléabilité des hématies résulte en une hypoperfusion/hypoxie tissulaire. On à des signes cliniques variés dont des formes atypiques. (Ayoob *et al.* 2010).

On note une acidose, une hyperlactatémie, un état de choc, ainsi qu'une défaillance multiviscérale, une torpeur, une hypotension. La défaillance hépatique et rénale s'explique par la formation des complexes immuns et par la toxicité de l'Hb dans les tubules rénaux. (Mathe *et al.* 2007)

Un phénomène de séquestration parasitaire est responsable d'une part d'une hypoparasitémie (sensibilité de la lecture du frottis plus faible), d'autre part d'un échappement du parasite à l'action du système immunitaire (persistance du parasite au milieu du thrombus par exemple), raison pour laquelle les rechutes sont fréquentes. (Solano-Gallego *et Baneth*, 2011).

2.5 Etude clinique

2.5.1 Description des formes cliniques

L'incubation dure environ 2 à 3 jours (Mehlhorn *et Schein* 1984), plus ou moins longue selon l'action du système immunitaire, l'espèce affectante, l'âge et la présence d'autre infection. (Sepposaari *et al* 2019).

2.5.1.1 La forme typique se caractérise par

- Abattement d'apparition brutale
- Syndrome pyrétique : anorexie totale et fièvre d'apparition brutale (hyperthermie en plateau, d'au moins 40°C pendant 48h).
- Syndrome hémolytique et modifications urinaires : anémie normochrome et normocytaire avec bilirubinurie et hémoglobinurie (urines colorées de brun à rouge)
- Modifications sanguines : chute de l'hématocrite, neutropénie, lymphopénie, thrombopénie. (Eichenberger *et al.* 2016)

2.5.1.2 Les formes atypiques sont nombreuses

- Formes apyrétiques, avec appétit modéré et comportement subnormal : formes asymptomatiques.
- Formes nerveuses, locomotrices (parésie) du fait de la myolyse.
- Ictère pré hépatique au début, suite à l'anémie.
- Glomérulonéphrites.
- Formes exceptionnelles (hémorragies rétiniennes, nécroses cutanées causées par des vascularites (phénomène immun pathologique rare) (Baneth 2018).

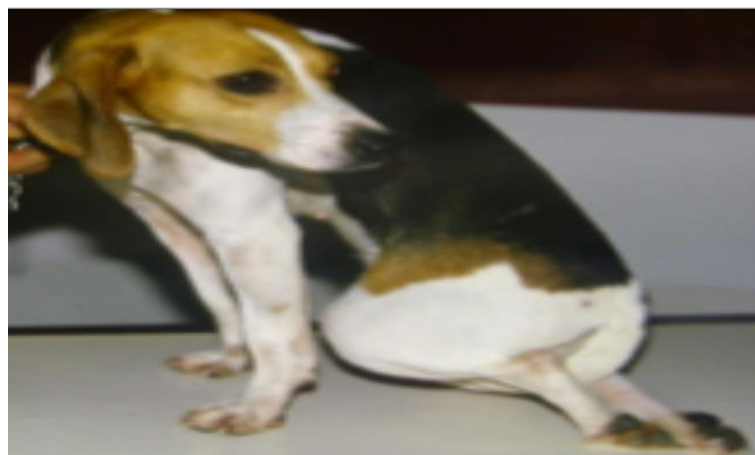


Figure 19: syndrome de polyradiculonévrite-myosite associé avec la babésiose canine (@ DZ vet 360).

2.6 Les bases de diagnostic

- Éléments épidémiologiques : animal jeune ou adulte exposé aux morsures de tiques, ou vivant en zone d'endémie au cours des pics épidémiologiques. (Yeagley *et al.* 2009)
- Clinique : tableau pyrétique et hémolytique.
- Diagnostic différentiel avec d'autres maladies concomitantes à cause des conditions immunosuppressives (Solano-Gallego *et al.* 2008), maladies infectieuses, pyrétiques et hémolytiques (ehrlichiose, anémies hémolytiques immunologiques...)

2.6.1 Diagnostic de certitude

- Observation du parasite par réalisation d'un frottis coloré à partir du sang périphérique récolté si possible au moment de l'hyperthermie. (Bohm *et al.* 2006). Lorsqu'on réalise un frottis, la zone privilégiée de lecture est son extrémité distale.

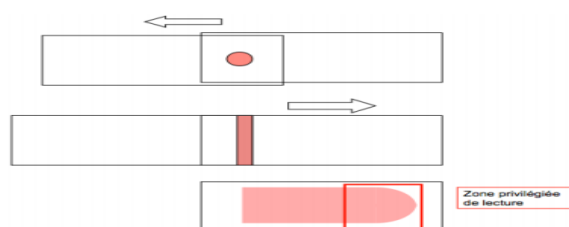


Figure 20: la méthode de réalisation d'un frottis sanguin pour le diagnostic de la babésiose. (@ DZ vet 360).

On trouve souvent plusieurs tests immunologiques commerciaux disponibles mais la détection des anticorps n'est pas très utilisée (pas de distinction entre piroplasmose aiguë et piroplasmose ancienne). (Goo *et al.* 2008).

La PCR est une technique de diagnostic sensible et spécifique fréquemment utilisée pour la détection de la babésiose canine et particulièrement utile pour les faibles niveaux de parasitémie et pour la détermination des espèces de parasites. (Quorollo *et al.* 2017)

2.7 Pronostic

Il est très hétérogène, de plutôt bon à très réservé (selon l'âge, l'animal, la souche, si c'est une récurrence, selon les paramètres hépatiques et rénaux) (Baneth, 2018).

La babésiose « classique » est celle dont les manifestations sont imputables à l'hémolyse. L'expression clinique est modérée à sévère, l'évolution est plutôt aiguë. Le pronostic est bon si le diagnostic et la prise en charge thérapeutique sont rapides (Baneth, 2018).

La babésiose « compliquée » est celle dont les manifestations ne sont pas toutes imputables à l'hémolyse. Une thérapeutique adaptée est nécessaire, non seulement spécifique mais aussi symptomatique. Le pronostic reste très réservé même si le diagnostic et le traitement sont précoces (Baneth,2018).

2.8 Traitement

2.8.1 Traitement spécifique

- Imidocarb (Carbesia®) 5-6 mg par kilogramme de poids de chien par voie intramusculaire ou sous-cutanée avec une bonne réponse clinique et une dose répétée 14 jours plus tard.(Checaet al.2017)
- La prise en charge médicale de l'infection peut nécessiter des traitements de soutien, notamment des transfusions sanguines, des liquides intraveineux et l'utilisation d'anti-inflammatoires (Baneth,2018)

Tableau 01: Traitement des babésioses canines (ESCCAP,2011).

PRINCIPES ACTIFS	POSOLOGIE	EFFICACITÉ / EFFETS INDÉSIRABLES ÉVENTUELS
Imidocarbe (dipropionate)	3 mg/kg IM ou SC à renouveler (2 jours après le 1er traitement)	B. canis : amélioration clinique dans les 48 heures, en l'absence de complications hépatiques, rénales ou vasculaires Effets indésirables : effet « anticholinestérase » pouvant inclure hypersalivation, tachycardie, dyspnée,
Doxycycline	10 mg/kg per os 1 fois par jour pendant 4 semaines	Intérêt dans le traitement des infections dues à B. gibsoni

2.9 Prophylaxie

- Limiter le parasitisme par les tiques : collier, spray, spot on, lotion... selon le type de chien, la région, la saison, le temps de latence et la rémanence. Il existe énormément de produits à disposition, On n'oublie pas les mesures d'hygiène et de nettoyage. (Solano-Gallego *et al.* 2016)
- Chimio-prophylaxie à base d'Imidocarb à double dose.
- Vaccin Pirodog (30 ans d'existence) : il est constitué d'Ag solubles issus d'une culture d'hématies parasitées plus de la saponine. (Baneth, 2018)

3. Parasite des cellules du système des phagocytes mononucléaire

3.1 Leishmaniose canine

3.1.1 Définition

La leishmaniose est une maladie infectieuse générale du chien, inoculable, due à l'action pathogène et à la multiplication dans les cellules du système des phagocytes mononuclées d'un protozoaire flagellé : *Leishmania infantum*, transmis essentiellement par la piqûre de phlébotomes. (Rodriguez *et al.* 2018)

Elle concerne surtout le chien, rarement le chat, et présente un caractère zoonotique. L'homme s'infecte par la piqûre de phlébotomes, eux-mêmes infectés à partir du chien, qui est le réservoir du parasite qu'il soit malade (porteur de signes et de lésions), infecté asymptomatique (sans signes visibles, c'est la majorité des cas) (Rodriguez *et al.* 2018)

3.1.2 Épidémiologie:

La leishmaniose est une protozoose assez spécifique, touchant d'abord les canidés (domestiques et sauvages) et l'Homme, exceptionnellement les félidés et dans certaines régions les rongeurs et les lagomorphes. C'est une zoonose d'incidence élevée pour laquelle le chien est réservoir. (Dawit, 2013)

La maladie est cosmopolite (africaine, sud-américaine, indienne). En Europe, elle est centrée sur le pourtour méditerranéen (de Gibraltar au Moyen-Orient, sur les deux rives de la mer Méditerranée), foyer endémique, stable et actif (Dawit, 2013 ; Sepposaari *et al.* 2019)

La transmission est quasi-exclusivement vectorielle par les phlébotomes (d'où une grande importance du vent car ils y sont très sensibles). De ce fait, la maladie présente un caractère saisonnier : la contamination a lieu durant la « belle saison » avec un effet cumulatif. Les cas cliniques apparaissent plutôt en fin d'hiver du fait de la durée d'incubation (plusieurs mois à plusieurs années) (Dawit, 2013).

Elle concerne essentiellement les animaux vivant à l'extérieur, du fait du caractère exophile du vecteur. Aucun arthropode autre que le phlébotome n'est impliqué dans la transmission naturelle de leishmanies.

Le phlébotome joue le rôle de vecteur biologique, c'est à dire qu'il y a transformation et multiplication du parasite au sein du vecteur(Dawit, 2013).



Figure 21 : Les phlébotomes sont les vecteurs de la Leishmania (James 2008)

3.1.3 Cycle évolutif :

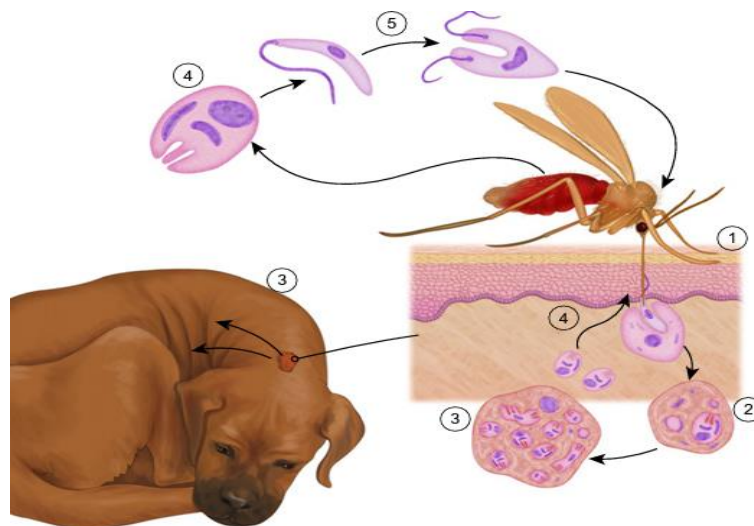


Figure 22: cycle évolutif de leishmania infantum (Sepposaari et al 2019).

Le cycle fondamental de la leishmaniose se déroule entre deux hôtes :

- ✓ L'infection des mammifères commence lorsqu'il s'agit de promastigotes extracellulaires métacycliques, présents dans la trompe des phlébotomes, sont introduits dans le derme d'un hôte sensible lors d'un repas de sang.
- ✓ Les promastigotes sont pénétrés ou phagocytés par les cellules du mononucléaire de système phagocytaire, entraînant la formation d'une vacuole parasitophore.
- ✓ À l'intérieur du PV, les promastigotes se transforment en amastigotes qui se multiplient activement par fission binaire.
- ✓ La prolifération incontrôlée des parasites conduit à l'éclatement des macrophages, libérant les parasites. Les amastigotes libres interagissent avec d'autres macrophages ou se propagent par la voie circulatoire ou lymphatique et infectent les organes riches en ces cellules immunitaires telles que le foie, la rate ou la moelle osseuse (Kaye et Scott 2011 ; Gallego Berenguer 2014).
- ✓ Les phlébotomes femelles acquièrent des parasites *Leishmania* lorsqu'elles se nourrissent d'un hôte mammifère infecté (Kaye & Scott, 2011 ; Gallego Berenguer, 2014).
- ✓ Il n'existe pas d'hôte définitif ni d'hôte intermédiaire car la reproduction sexuée des leishmanies n'est pas formellement démontrée (Kaye & Scott, 2011 ; Gallego Berenguer, 2014).

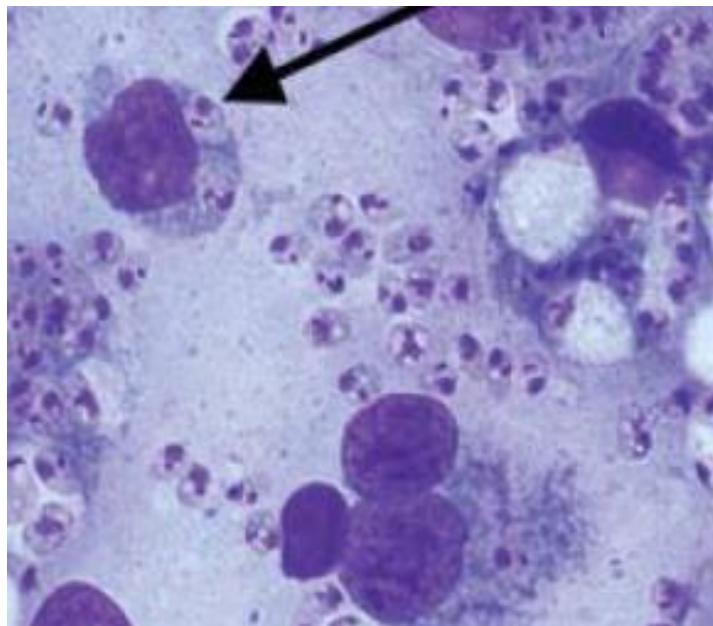


Figure 23 : Échantillon cytologique coloré au Giemsa de la peau d'un chien atteint de leishmaniose (Mary, et al 2022).

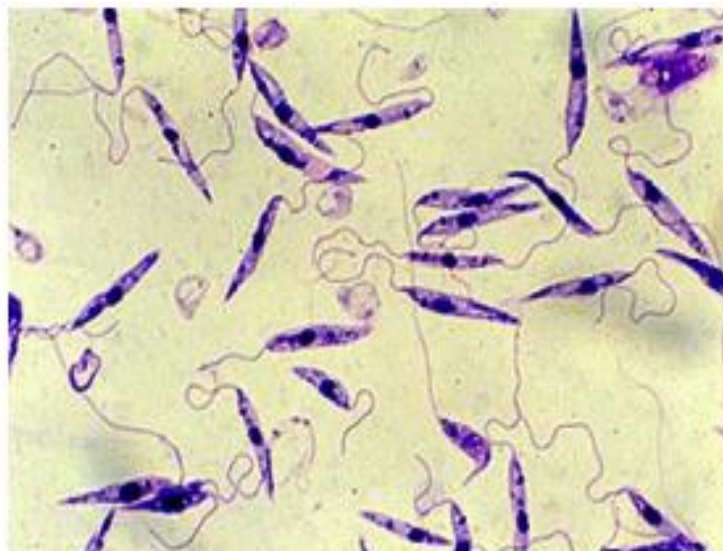


Figure 24 : Les promastigotes chez le vecteur (@anonyme)

3.4 Etude clinique :

Selon leurs manifestations cliniques, les chiens atteints de leishmaniose peuvent être classés en trois stades évolutifs :

- asymptomatique, cliniquement sain avec confirmation diagnostic positif;
- oligosymptomatique, avec une symptomatologie rare correspondant aux stades initiaux de l'infection
- symptomatique, avec des infections actives et chroniques. Cette classification simple et schématique pourrait suggérer une évolution progressive

Développement de la maladie; cependant, il y a des animaux qui peuvent rester dans le même stade tout au long de l'infection. (Oliva *et al.* 2004 ; OIE 2014).

Un autre modèle de classification envisage non seulement les aspects cliniques mais aussi les aspects sérologiques et pathologiques ,données et reflète ainsi mieux la situation d'un individu particulier. (Solano-Gallego *et al.* 2009; Solano-Gallego *et al.* 2011).

La leishmaniose provoque des lésions multiviscérales, avec une grande variété de manifestations cliniques qui peuvent être divisées en signes cutanés et systémiques (Sanchez *et al.* 2004)

Les signes cutanés sont généralement les plus évidents et sont souvent le principal motif pour la consultation vétérinaire. Il s'agit d'une dermatite exfoliative sans démangeaisons, d'alopecie progressive, notamment des membres et du contour des yeux et des oreilles, ainsi que des lésions ulcérate et des plaies avec des croûtes dans les oreilles, avec un onychogryphose. (Oliva *et al.* 2004 ; Oie, 2014).

Les signes systémiques comprennent une adénomégalie généralisée avec une hypertrophie des ganglions augmente de taille jusqu'à trois à cinq fois de sa taille normal, un amaigrissement, une hépatomégalie, une splénomégalie, arthrite ou synovite occasionnelle, et un éventail de troubles oculaires, tels que la kérato-conjonctivite et l'inflammation oculaire - uvéite et blépharite. (Sanchez *et al.* 2004).

Les troubles systémiques se reflètent dans l'examen clinique. Les animaux atteints semblent maigres, léthargiques, fébriles, anémiques, généralement sans démangeaisons évidentes.

Des épistaxis ou des hémorragies du tube digestif sont fréquemment observées dans les stades sévères de la maladie. De plus, les troubles pulmonaires, l'altération hépatique et un syndrome néphrotique peut également être retrouvé. (Rodriguez *et al.* 2018).

Ces altérations influencent sur les paramètres biochimiques, diagnostiques et témoignent de l'impact profond de cette maladie sur différents systèmes et organes, en particulier sur la fonction rénale. Les troubles rénaux peuvent être les seules manifestations cliniques de la leishmaniose canine et peut évoluer d'une protéinurie légère à un syndrome néphrotique, avec une insuffisance rénale chronique comme cause principale de mortalité. (Rodriguez *et al.* 2018)

Parfois, d'autres signes cliniques peuvent être observés, tels que des troubles neurologiques, y compris l'ataxie, la paralysie ou les convulsions ; myosite, lésions osseuses avec ostéopénie et résorption; et synovite.



Figure 25 : signes clinique de la leishmaniose canine. (a - c) Dermatite et lésions trouvées dans la partie supérieure de la tête, museau, oreilles et paupières ou (d) membres. (e) onychogryphose. (f) dermatite exfoliative. (g) kératite et des plaies cutanées (Rodriguez et al. 2018)

3.5 Diagnostic:

1ère étape de suspicion fondée sur des éléments évocateurs :

- Epidémiologiques : présentations de la maladie, tout animal provenant d'une région endémique peut être potentiellement atteint de leishmaniose, ce qui doit être pris en compte lors du diagnostic (Rodriguez et al. 2018).
- Cliniques : association d'un état général dégradé, de lésions cutané-muqueuses arégénérative et de polyadénomégales (les trois ne sont pas systématiques) Oliva *et al.* (2004), Oie, (2014) (Sanchez *et al.* 2004).
- Biologiques non spécifiques : anémie (a) régénérative réfractaire à tous les traitements, leucocytose en début de maladie, leucopénie imputable à une lymphopénie en fin de maladie, hyperprotéïnémie due à la synthèse massive d'anticorps (70% des chiens à plus de 80g/L) associant hypo-albuminémie et hypergammaglobulinémie d'où le caractère indispensable de l'électrophorèse et/ou du rapport albumine/globuline. Elle peut également être mise en évidence par la réaction de formol-leucogélification (= sérum de l'animal séparé en deux fractions, l'une servant de témoin, l'autre dans laquelle quelques gouttes de formol provoquent une gélification opaque du sérum, traduisant une protidémie élevée). On peut aussi observer une thrombopénie

non systématique, non associée automatiquement aux troubles de la coagulation tels que l'épistaxis (Rodriguez *et al.* 2018).

- Sérologie quantitative : l'immunofluorescence indirecte est le « gold standard » associant sensibilité et spécificité maximales (Reis *et al.* 2006).
- La réalisation d'un ELISA est également possible. L'interprétation du résultat suppose que le laboratoire indique la technique utilisée et son seuil de positivité (Solano-Gallego *et al.* 2011).
- Ponction ganglionnaire (adénogramme) : facile à réaliser et à lire si l'étalement est de qualité et riche en parasites. (Cowell *et al.* 2000).
- Ponction médullaire (myélogramme) : réalisation et lecture plus délicates mais meilleure sensibilité (Cowell *et al.* 2000).
- Biologie moléculaire : la PCR peut être envisagée après la sérologie quantitative et l'examen parasitologique, à partir du prélèvement ayant servi aux étalements et examens microscopiques. (Solano-Gallego *et al.* 2011).

Tableau 02 : les étapes de diagnostic de la leishmaniose

Chien suspect = Epidémiologie + Clinique + Biologie évocatrices				
1. ANALYSE SEROLOGIQUE QUANTITATIVE (IFI, ELISA)				
Négative Titre < seuil		Positive		
		Titre bas ou proche du seuil	Titre élevé >> seuil	
2. PARASITOLOGIE – EXAMEN DIRECT (cytologie)				
Négative		Positive		
3. PCR (NL, MO)				
Négative	Positive			
Revoir l'hypothèse	Leishmaniose maladie confirmée Evaluer le stade clinique			

Lors du diagnostic, il convient de définir le stade d'évolution de la maladie pour pouvoir donner un pronostic au propriétaire (Dz vet 360 S10mladies parasitaires des carnivores domestiques).

3.6 Traitement:

La décision thérapeutique suppose des considérations préalables :

- Informer le propriétaire :
 - Caractère zoonotique et transmission à l'Homme.
 - Risques de rechute même si l'animal est cliniquement guéri.
 - Suivi régulier des critères cliniques, sérologiques et biologiques.
 - Stérilisation parasitaire impossible, l'animal restant porteur et donc source de parasites toute sa vie (Rodriguez *et al.*2018).
- Se poser la question de l'euthanasie si :
 - Les critères de l'insuffisance rénale sont très dégradés (Rodriguez *et al.*2018).

Tableau 03: traitement de la leishmaniose selon le stade clinique

On utilise les stades cliniques préalablement définis pour adapter le traitement à la situation :

Etat	Stades	Pronostic	Thérapeutique	Prophylaxie post-traitement
Résistant	0	Bon	Surveillance clinique, biologique et sérologique	Prophylaxie insecticide obligatoire et permanente
Sensible	I	Bon	Surveillance à traitement : <ul style="list-style-type: none"> • Allopurinol seul • Ou Glucantime® + allopurinol • Ou Miltéfosine + allopurinol 	
	II	Bon a réservé	Traitement : <ul style="list-style-type: none"> • Glucantime® + allopurinol • Ou Miltéfosine + allopurinol 	
	III	Réservé à péjoratif	Traitement : <ul style="list-style-type: none"> • Glucantime® + allopurinol • Ou Miltéfosine + allopurinol + traitement de l'IR	
	IV	Très mauvais	Traitement : Allopurinol seul + traitement de l'IR	

(Dz vet 360 S10mladies parasitaires des carnivores domestiques).

3.7 Prophylaxie:

Les insecticides efficaces contre les piqûres de phlébotomes sont les pyréthriinoïdes (Dantas-Torres *et al.* 2012;Otranto and Dantas-Torres 2013)

Une prophylaxie vaccinale est possible : CaniLeish®. Le protocole consiste à effectuer 3 injections SC à 3 semaines d'intervalle chez des chiens âgés de plus de 6 mois. Le vaccin consiste en une protéine antigénique issue d'une culture de leishmanies associée à un adjuvant(Fernandes *et al.* 2014).

Le chien doit être séronégatif pour les leishmanies avant la vaccination ; en effet, l'efficacité du vaccin n'est pas démontrée quand le chien est déjà séropositif. Il ne faut pas l'associer aux autres valences vaccinales. On préconise un rappel annuel (Fernandes *et al.* 2014).

L'efficacité de ce vaccin n'a pas été testée chez la chienne gestante ou allaitante. Son utilisation ne dispense pas de la protection insecticide (Fernandes *et al.* 2014).

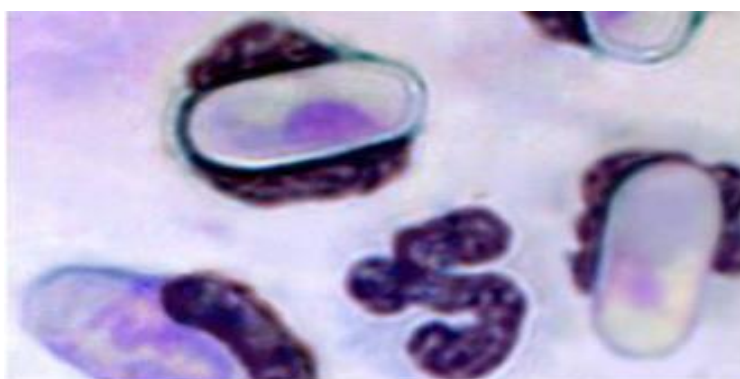
3.2 HEPATOZOONOSE CANINE

3.2.1 DEFINITION

L'hépatozoonose canine est une maladie peu fréquente mais assez pathogène. C'est une protozoose infectieuse, non contagieuse, due à l'action pathogène et à la multiplication dans les globules blancs d'un apicomplexa : *Hepatozoon canis* (à bien différencier d'*H. americanum* dont le pouvoir pathogène est différent), transmis obligatoirement par l'ingestion de tiques ixodidées (*Rhipicephalus*). Cette maladie est caractérisée cliniquement par un tableau protéiforme. (Sepposaari *et al* 2019).

Le parasite n'est pas situé dans les glandes salivaires mais dans le corps de la tique. Le diagnostic est difficile (c'est le plus souvent une trouvaille, personne ne pense « cette maladie là, ça ressemble bien à une hépatozoonose ! ») et la thérapeutique est limitée. (Sepposaari *et al* 2019).

Le parasite ressemble à un cristal rectangulaire réfringent qui déforme le globule blanc.



Gamonte de *Hepatozoon canis* à l'intérieur d'un granulocyte dans un frotti sanguin coloré par Giemsa. (Sepposaari *et al* 2019).

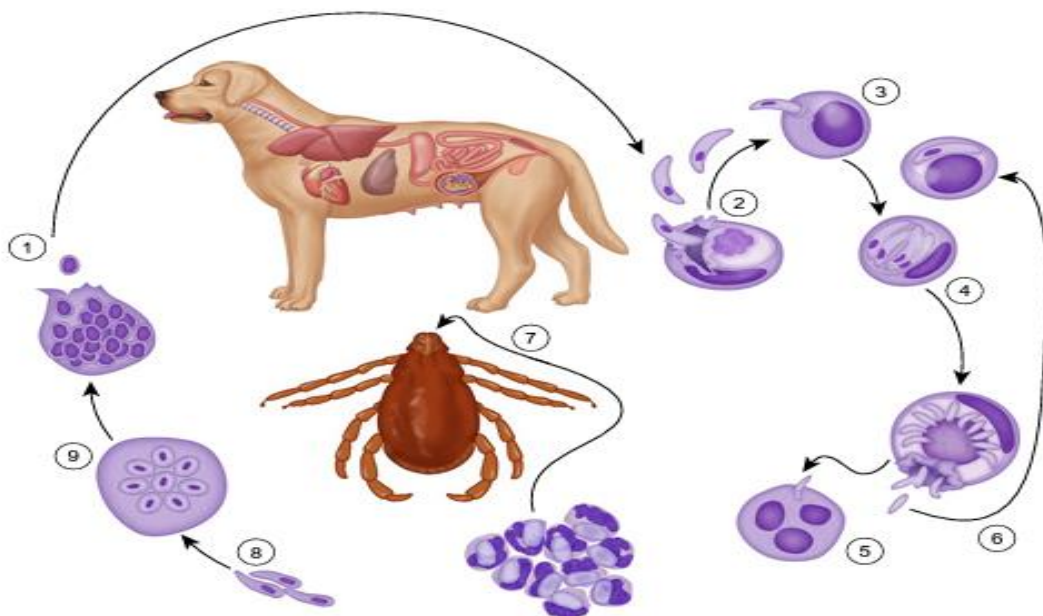
3.2.2 EPIDEMIOLOGIE

La répartition du parasite est péri-méditerranéenne, liée à la présence de *Rhipicephalus*. La maladie intéresse tous les chiens exposés aux morsures de tiques. (Sepposaari *et al* 2019).

3.2.3 LE PARASITE

C'est un apicomplexa à cycle hétérogène dixène caractérisé par :

- Des macroschizontes (20µm) renfermant des macroschizozoïtes (1 à 4) dans le SPM du chien
- Des microschizontes renfermant des microschizozoïtes (plusieurs centaines) dans le cytoplasme de nombreuses cellules du SPM, cellules musculaires, viscères,...
- Des gamontes en forme de cristal rectangulaire à angles arrondis, dans les PNN et les monocytes : 8-12µm x 3-6µm
- Chez la tique vectrice : ingestion de ces gamontes par la tique (larve ou nymphe), formation d'un ookyste et sporozoïtes disséminés dans la cavité générale mais absents des glandes salivaires à transmission par ingestion de la tique (nymphe et adulte) et non par piqûre. (Sepposaari *et al* 2019).



Cycle évolutif de *Hepatozoon canis* (Sepposaari *et al* 2019).

3.2.4 ETUDE CLINIQUE

L'incubation est de durée inconnue. Il y a une proportionnalité entre la parasitémie et l'expression clinique. Il existe de nombreux états asymptomatiques chez lesquels on observe fortuitement le parasite. On décrit les formes suivantes :

- Abattement prononcé et progressif
- Hyperthermie irrégulière, anorexie
- Douleurs diffuses, aiguës liées à la locomotion (extrémités distales des os longs) : lombalgie, arthralgies, locomotion difficile, ataxie, mouvements anormaux,...
- Hypersécrétions : jetage, ptyalisme, épiphora, diarrhée, vomissements
- Adénomégalies, splénomégalies
- Crises épileptiformes
- Modifications sanguines : anémie modérée, leucocytose, thrombopénie.

(Sepposaari *et al* 2019).

3.2.5 DIAGNOSTIC

On réalise un étalement de sang pour mettre en évidence la forme typique de la maladie. Des radiographies permettent de mettre en évidence des lésions intéressant l'extrémité distale des os longs. (Sepposaari *et al* 2019).

3.2.6 TRAITEMENT

Il n'existe aucun traitement probant, les moins mauvais sont :

- Le Toltrazuril (Baycox ND) 5-10mg/kg p.o 5-10j de suite associé à un traitement symptomatique. Le pronostic reste sombre.
- L'Imidocarb (Carbesia) à 5-6 mg/kg IM ou SC tous les 15 jours jusqu'à parasitémie négative. (Sepposaari *et al* 2019)

3.2.7 PROPHYLAXIE

Elle repose sur la lutte contre les tiques (Sepposaari *et al* 2019).

Chapitre IV :

Apparence cytologique des différents protozoaires

1. *Leishmania*

Les amastigotes de *Leishmania* sont petits (~2-4µm long, 1-2µm large) ovoïde, et ont un cytoplasme pâle avec des noyaux prominents, roses, ronds.

Une caractéristique est le kinetoplast violet profond (un seul grand mitochondrium) qui forme un angle droit avec le noyau, formant souvent une forme T. (Burton, 2018)

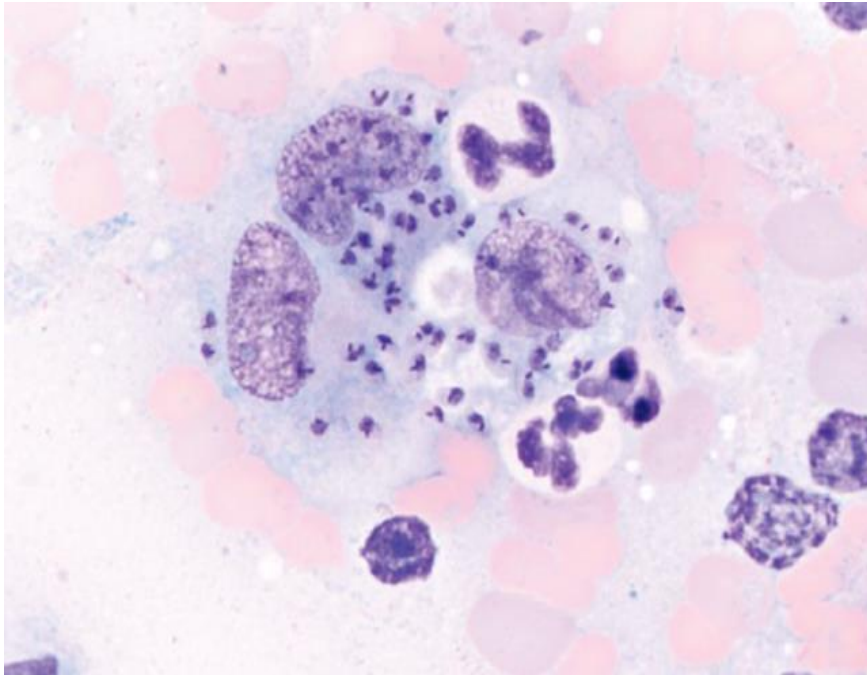


Figure 26 : *leishmania spp.* Chien, objectif 100×. Notez la forme caractéristique en (T) des organismes. (Andrew G. Burton, 2018)

C'est une caractéristique importante utilisée pour distinguer *Leishmania spp* et d'autres petits organismes infectieux. Généralement les leishmanias provoquent une inflammation granulomateuse. (Burton, 2018)

2. *Hepatozoon ssp*

Ils ont une tache bleue pâle ou peuvent avoir une teinte négative. Les noyaux sont variablement visibles. *H. canis* gamonts sont légèrement plus grands que ceux de *H. americanum*, mais ne peuvent pas être distingués de manière fiable par la cytologie. (Vincent-Johnson, *et.al*1997)

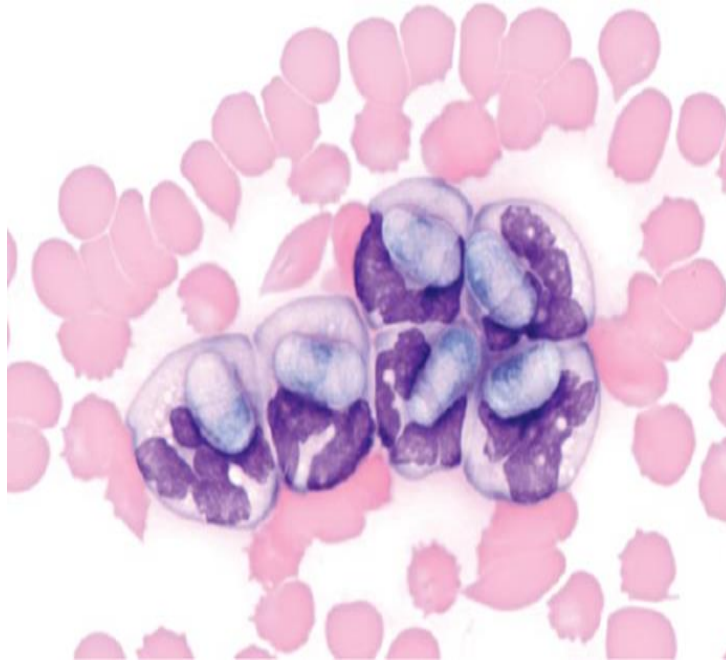


Figure 27: *Hepatozoonam ericanum*, chien, sang périphérique, objectif $\times 100$ (Burton, 2018)

Ils ont une tache bleue pâle ou peuvent avoir une teinte négative. Les noyaux sont variablement visibles. *H. canis* gamonts sont légèrement plus grands que ceux de *H. americanum*, mais ne peuvent pas être distingués de manière fiable par la cytologie. (Vincent-Johnson, *et.al*1997)

3. Babesia:

Les formes pyriformes à amoéboïdes de *B. canis* peuvent s'étendre sur la plupart du diamètre de la RBC), tandis que les formes de tige et de fusiforme, qui sont généralement présentes simultanément, sont beaucoup plus petites et plus difficiles à détecter. Les formes intra-érythrocytaire des deux autres espèces identifiées chez les chiens, *B. gibsoni* et *B. conradae*, sont relativement petites par rapport à *B. canis*, se produisant à l'intérieur des GR sous forme d'anneaux, de barres et de formes pyriformes, de bande ou de cocoïdes. Les cellules infectées sont également les plus susceptibles d'être situées le long de la périphérie du frottis sanguin. (Piane L, et al.2016)



Figure 28: Sang périphérique d'un chien infecté par *Babesia canis*. Deux piroplasmes sont observés dans un seul GR dans ce champ (coloration de Wright, grossissement d'origine 330×). (Piane, et al.2016)

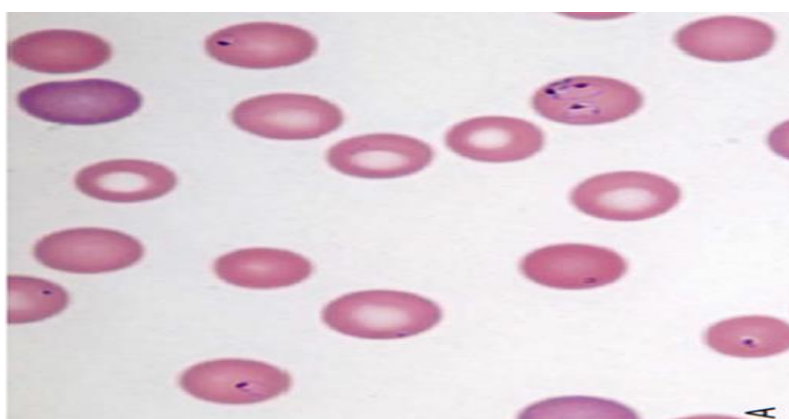


Figure 29: Érythrocytes d'un chien présentant les formes annulaires plus petites et plus amorphes caractéristiques de l'infection à *Babesia gibsonii* (Courtesy Dr. Rick Cowell in Hematology Atlas of the Dog and Cat.)

4. *Trypanosoma*

Les formes trypomastigotes de *Trypanosoma spp.* sont fusiformes en forme, contiennent un noyau, un kinetoplaste et un flagellum, et sont de 16 à 26 μm de long. (Maryet al 2022)

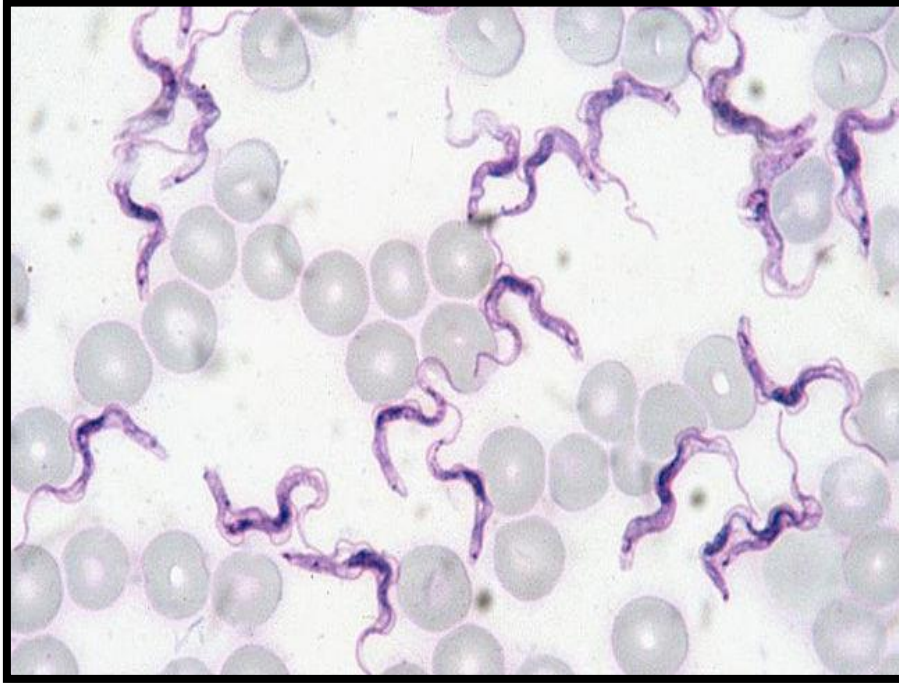


Figure 30 : la forme amastigote de *Trypanosoma evansi* dans un frottis sanguin (site web@)

Partie expérimentale

CHAPITRE I:

Matériel et méthodes

1. Lieu et durée d'étude

Notre étude est réalisée au sein du service de pathologie des carnivores de l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université de Tiaret. Sur une période allant de septembre 2022 à juin 2023. L'objectif principal de cette recherche est de diagnostiquer des cas cliniques de protozooses du sang et du système lymphoïde chez des chiens présentés pour divers motifs pathologiques au nombre de 650 chiens de différentes races, des deux sexes et d'un âge compris entre 2 mois et 14 ans, le diagnostic clinique est associé à une ponction des ganglions lymphatique et/ou à un frottis sanguin à un examen cytologique. De ce fait nous avons répertorié les cas confirmés atteints d'une pathologie à protozoaire ce qui nous a permis d'établir un état des lieux sur l'incidence de ce type de pathologies chez l'espèce canine.

2. Démarches cliniques

Tout d'abord, dès leur arrivée, les animaux ont été soumis à un examen clinique approfondi, nous avons rédigé une fiche d'examen clinique afin d'évaluer l'état de chaque système et de collecter un maximum d'informations cliniques pour établir un diagnostic précis. Une fois la présence d'une protozoose est suspectée cliniquement. Une ponction des ganglions lymphatique et ou un frotti sanguin est réaliser dans l'immédiat.

Tableau 04 : Cas étudiés

Cas	Date de réception	Age	Sexe	Race
1	11/09/2022	17 mois	♂	Berger allemand
2	18/09/2022	2 mois	♀	Berger allemand
3	20/09/2022	7 ans	♂	Croisé Berger allemand
4	20/09/2022	7 ans	♂	Croisé Berger allemand
5	12/10/2022	8 ans	♂	Braque français
6	12/10/2022	4 ans	♂	Berger belge
7	16/10/2022	2 ans	♂	Bergerd'atlas
8	25/10/2022	3 ans	♂	Croisé Berger allemand
9	27/10/2022	5 ans	♂	Berger allemand
10	02/11/2022	4 ans	♂	Berger allemand
11	06/11/2022	3 ans	♂	Fox-terrier
12	07/11/2022	1 an	♀	Bergerd'atlas
13	07/11/2022	1 an	♂	Bergerd'atlas
14	04/12/2022	13mois	♂	Pointer
15	11/12/2022	14 ans	♂	Berger allemand
16	19/12/2022	3 ans	♂	Croisé Berger allemand
17	20/12/2022	4 ans	♂	Lévrier

18	22/12/2022	2 ans	♀	Akita américain
19	09/01/2023	3 ans	♂	Lévrier
20	12/01/2023	2 ans	♀	Berger belge
21	15/01/2023	3 ans	♀	Braque allemand
22	15/01/2023	3 ans	♂	Berger allemand
23	15/01/2023	5 ans	♀	Bergerd'atlas
24	18/01/2023	4 ans	♂	Berger belge
25	19/01/2023	5 ans	♂	Berger allemand
26	16/02/2023	5 ans	♂	Rottweiler
27	28/02/2023	6 ans	♂	Pointer
28	13/03/2023	3 ans	♂	Braque français
29	16/03/2023	1an	♂	Berger belge
30	19/03/2023	2 ans	♂	Berger allemand
31	19/03/2023	4 ans	♂	Berger allemand
32	21/03/2023	9 mois	♂	Berger allemand
33	23/03/2023	2 ans	♂	Staff américain
34	22/03/2023	14 ans	♂	Croisé Berger allemand
35	09/04/2023	8 ans	♂	Staff américain

36	09/04/2023	7 ans	♀	Croisé Berger allemand
37	10/04/2023	3 ans	♂	Rottweiler
38	11/04/2023	5 ans	♀	Berger allemand
39	13/04/2023	2 ans	♀	Berger belge
40	17/04/2023	6 ans	♂	Lévrier
41	19/04/2023	3 ans	♀	Bergerd'atlas
42	27/04/2023	2 ans	♀	Berger allemand
43	01/05/2023	2 ans	♀	Rottweiler
44	02/05/2023	2 ans	♀	Berger belge
45	03/05/2023	10 ans	♀	Braque Saint-Germain
46	15/05/2023	2 ans	♀	Epagneul
47	07/06/2023	3 ans	♂	Staff américain
48	08/06/2023	3 ans	♀	Dogue argentin
49	11/06/2023	6 ans	♂	Braque français
50	15/06/2023	2 ans	♂	Lévrier
51	16/06/2023	1 ans	♂	Braque français
52	16/06/2023	3ans	♂	Lévrier

3. Matériel

3.1 Matériel utilisé pour cytologie ganglionnaire

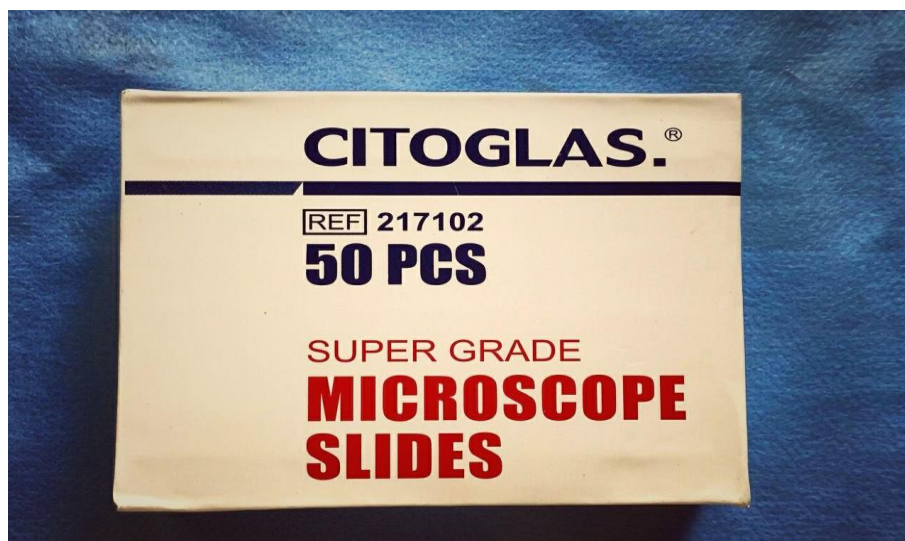


Figure 31 : lames (CITOGLAS. REF217102 boîte de 50 PCS).



Figure 32: Seringues pour ponction à aiguille fine (PRONTO SERINGUE C.I.CRETES 2.5ml, 25G. 0.50X16ml).

3.2 Colorants :

- May Grunwald en solution (REF SPOMG-OT-1L)
- Giemsa e solution (REF SPOMG-OT-1L)



Figure 33 : Les colorants May-Grunwald et Giemsa en solution (REF SPOMG-OT-1L).



Figure 34 : KIT RAL 555 (RAL.DIAGOSTICS).



Figure 35 : BIO-DIFF KIT Dias Can

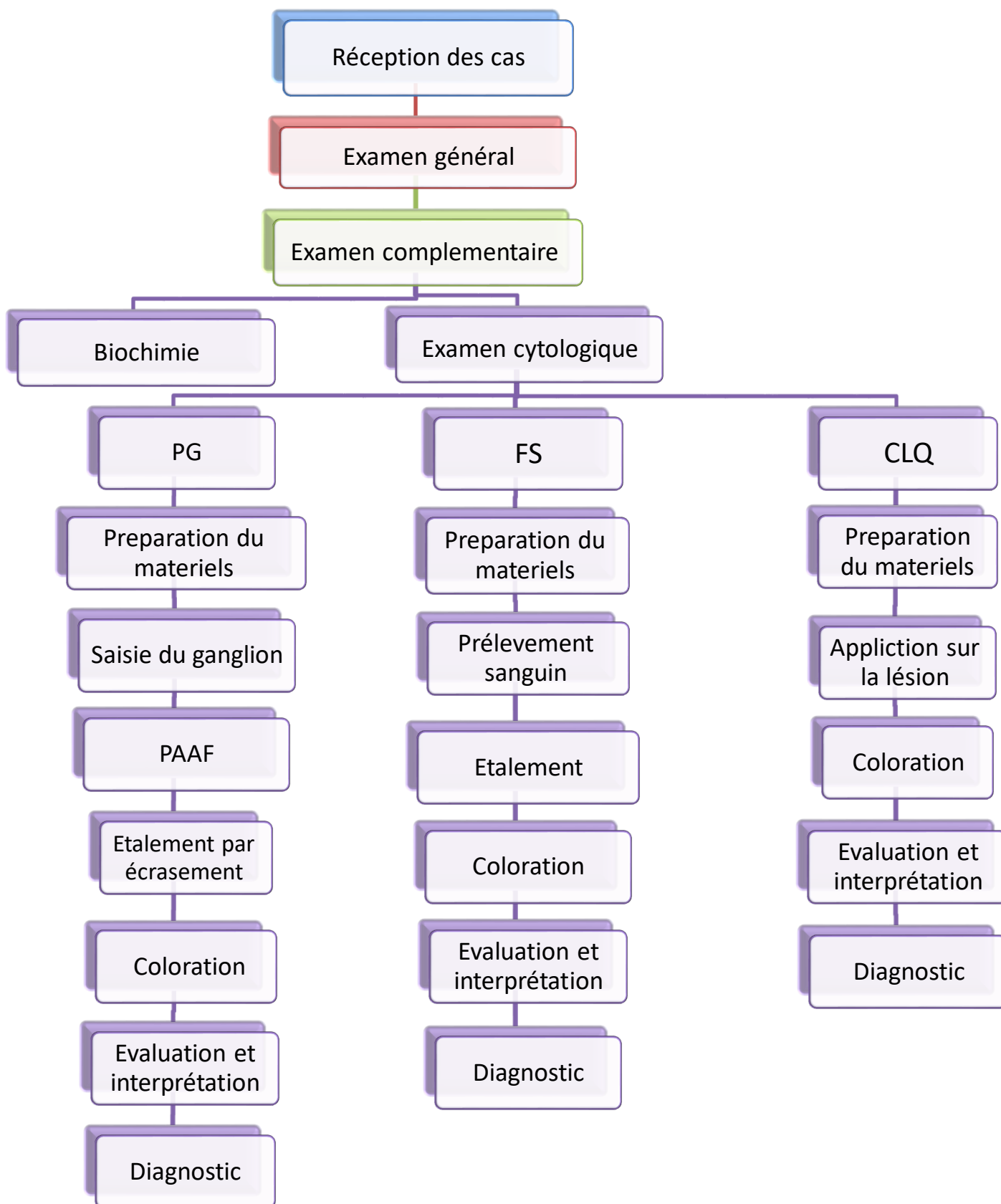
3.3 Pour la lecture des frottis :

- Microscope optique (OPTIKA B350) .
- Grossissement de lecture. X10 ; X 40, X100.



Figure 36: Microscope optique (OPTIKA B350) .

4. Organigramme de démarche clinique



5. Ponction ganglionnaire



Figure 37: Saisie du ganglion lymphatique



Figure 38 : ponction du ganglion lymphatique à l'aiguille fine.

6. Etalement

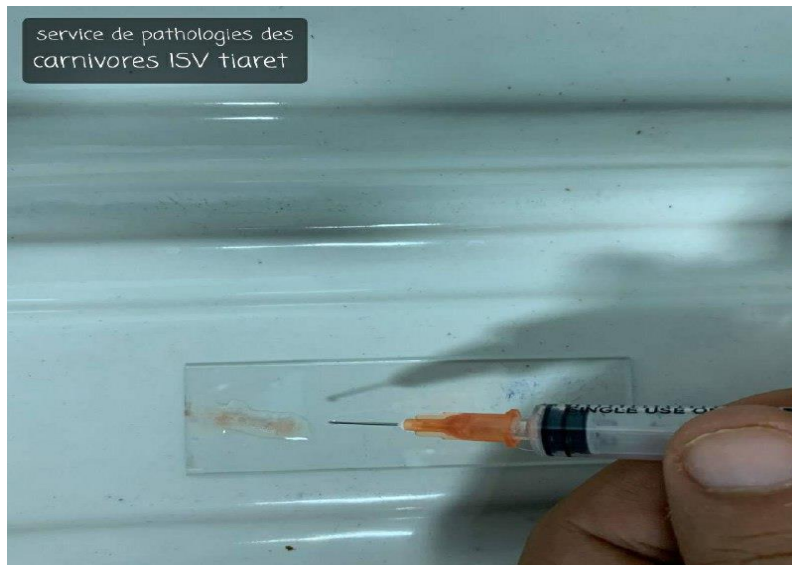


Figure 39 : dépôt du prélèvement ganglionnaire récolté dans la lame.



Figure 40 : Etalement avant coloration.

7. calque



Figure 41 :Réalisation d'un calque cutanée

8. Réalisation d'un frotti sanguin



Figure 41:Réalisation d'un frotti sanguin

9. Technique de coloration



Figure 42 :l'étape de fixation du lame .



Figure 43 :L'étape de fixation de coloration .

CHAPITRE II :

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 05 : Résultat d'études :

Cas	motif de consultation et signes cliniques	Suspicion	NP	Interprétation des frottis	Diagnostic Cytologique
1	- épitaxie	Ehrlichioses	PG	adénite granulomateuse des Morula d'ehrlichioses intra et extra cytoplasmique	Ehrlichioses
2	- amaigrissement - signes d'ictère	Babésiose Anaplasmose	FS	présence des babésie hémolyse des GR	Babésiose
3	- asthénie	leishmaniose	PG	adénite granulomateuse la présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
4	- épitaxie	Ehrlichioses	PG	adénite granulomateuse Morules d'ehrlichioses intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Ehrlichioses
5	- distension abdominal - asthénie	leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
6	- anorexie - asthénie	Anaplasmose Babésiose	FS	la présence des anaplasma à la périphérie des GR	Anaplasmose
7	- amaigrissement	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose

8	- paralysie postérieure brutal	Babésiose Anaplasmosse	FS	présence des babésie a l'intérieur des GR ; hémolyse des GR	Babésiose
9	- épitaxie - asthénie	Ehrlichioses	PG FS	adénite granulomateuse des Morula d'ehrlichioses intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Ehrlichioses
10	- amaigrissement - ulcération - anorexie	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
11	- deslésionsdermiques	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse la présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
12	- amaigrissement - ulcération oculaire	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
13	- amaigrissement	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
14	- amaigrissement	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
15	- deslésions oculaires (uvéïte)	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose

16	- amaigrissement - ulcération	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
17	- dysorexie - altération de l'état général	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
18	- des lésions dermique et oculaire	Leishmaniose	PG CLQ	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
19	- rechute	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
20	- anorexie - ictère	Anaplasmosse Babésiose	FS	présence des anaplasma la périphérie des GR anchantocyte+++	Anaplasmosse
21	- des lésions cutanées	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
22	- diarrhée - parasitisme	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
23	- distension abdominal - fracture du MAG	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose

24	- distension abdominal	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
25	- alopecie et prurit	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote au niveau des macrophages	Leishmaniose
26	- toux - intolérance a l'efforts	Dirofilariose	FS	Présence des microfilaires	Dirofilariose
27	- des lésions dermique	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
28	- amaigrissement - diarrhée	Leishmaniose	PG	Adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
29	- toux - jetage nasal	Dirofilariose		Présence des microfilaires	Dirofilariose
30	- anorexie	Babésiose Anaplasmosse	FS	présence des babésie hémolyse des GR	Babésiose
31	- prostration	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse la présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
32	- anorexie - chute de poids	Babésiose Anaplasmosse	FS	présence des babésie hémolyse des GR	Babésiose

33	- des lésions dermiques	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
34	- des lésions dermiques	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote avec des kinetoplaste	Leishmaniose
35	- amaigrissement - intolérance a l'effort	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote	Leishmaniose
36	- infestation par les tiques	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote avec des kinetoplaste	Leishmaniose
37	- toux - intolérance a l'effort	Dirofilariose	FS	Présence des microfilaires	Dirofilariose
38	- épitaxie	Ehrlichioses	PG	adénite granulomateuse présence des morulas d'ehrlichioses	Ehrlichioses
39	- épitaxie	Ehrlichioses	PG	adénite granulomateuse morula d'ehrlichioses	Ehrlichioses
40	- épitaxie	Ehrlichioses	PG	Adénite granulomateuse Présence des morulas d'ehrlichioses	Ehrlichioses
41	- amaigrissement - des lésions dermiques	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
42	- épitaxie	Ehrlichioses Leishmaniose	PG	Adénite granulomateuse Présence des morula d'ehrlichioses	Ehrlichioses

43	- infestation parasitaire externe	Babésiose Anaplasmosse	FS	présence des babésie hémolyse GR	Babésiose
44	- dégradation de l'état général	Babésiose	FS	présence des babésie hémolyse GR	Babésiose
45	- épitaxie	Ehrlichioses	PG	Adénite granulomateuse Morula d'ehrlichioses	Ehrlichioses
46	- épitaxie - des lésions cutanées	Ehrlichioses Leishmaniose	PG	Adénite granulomateuse Morula d'ehrlichioses	Ehrlichioses
47	- chute du poids	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
48	- des lésions dermiques	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse la présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
49	- mauvaise état général - vomissement	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse la présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
50	- amaigrissement - intolérance a l'effort	Leishmaniose	PG	adénite granulomateuse la présence des amastigote intra et extra cytoplasmique au niveau des macrophages	Leishmaniose
51	- distension abdominal	Babésiose	FS	présence des babésie à l'intérieure des GR	Babésiose
52	- hématome dans la région de la crête	Babésiose	FS	térieure des GR	Babésiose

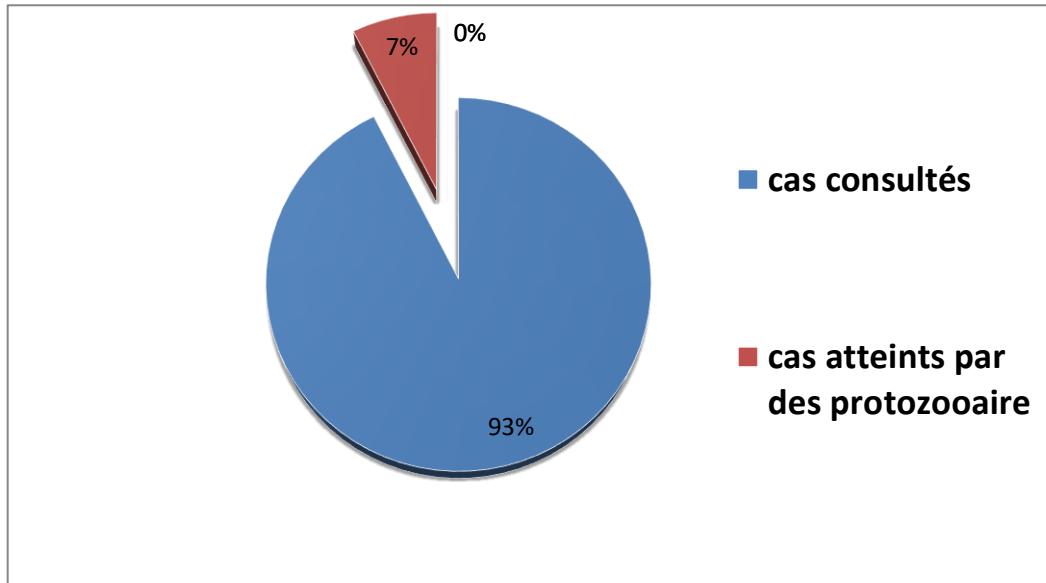


Figure 44 : Répartition des cas atteint par une infection à protozoaires diagnostiqués par rapport a tous les cas consultés pour différent motifs.

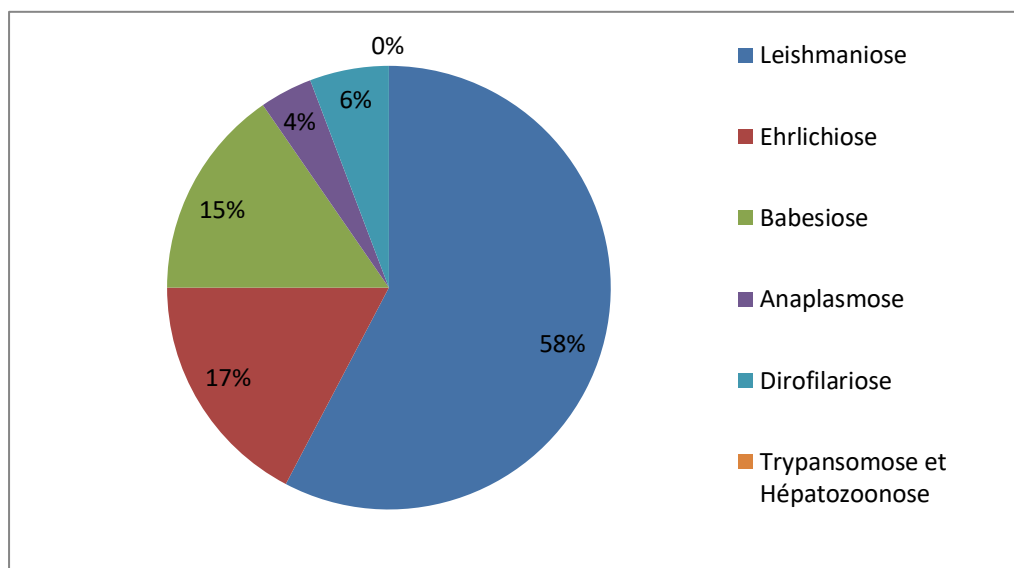


Figure 45 : Répartition des cas étudiés en fonction du diagnostic cytologique et la nature de la pathologie

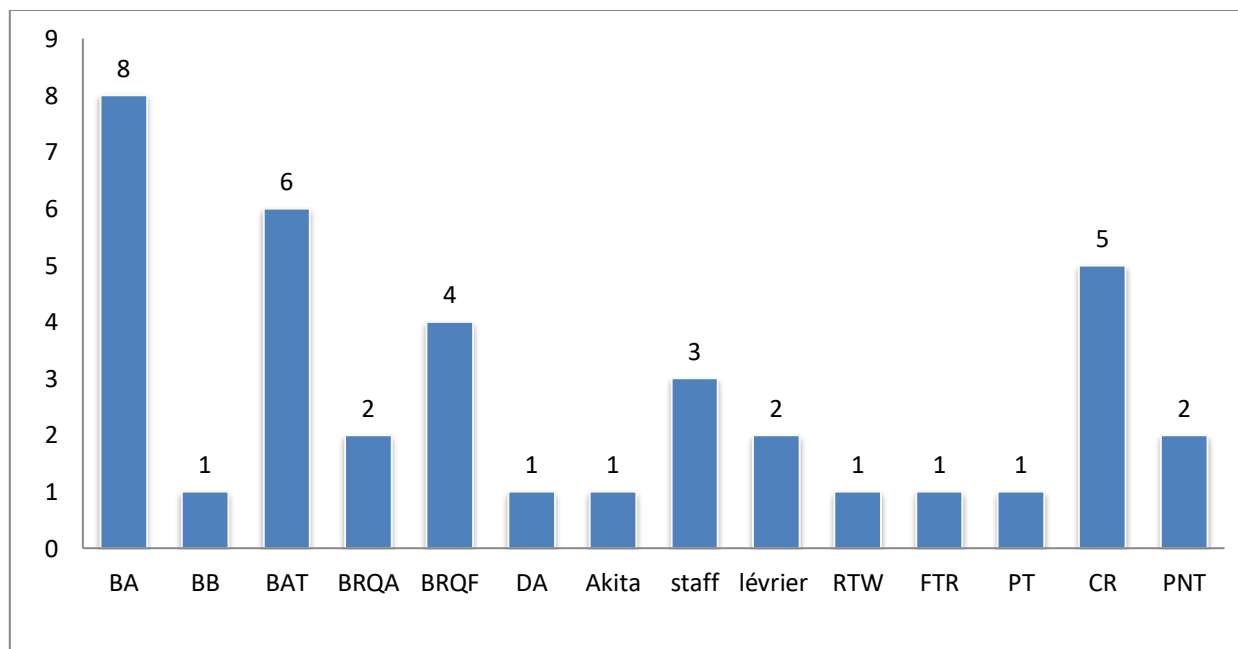


Figure 46 : Répartition des cas pathologie à protozoaire en fonction de la race

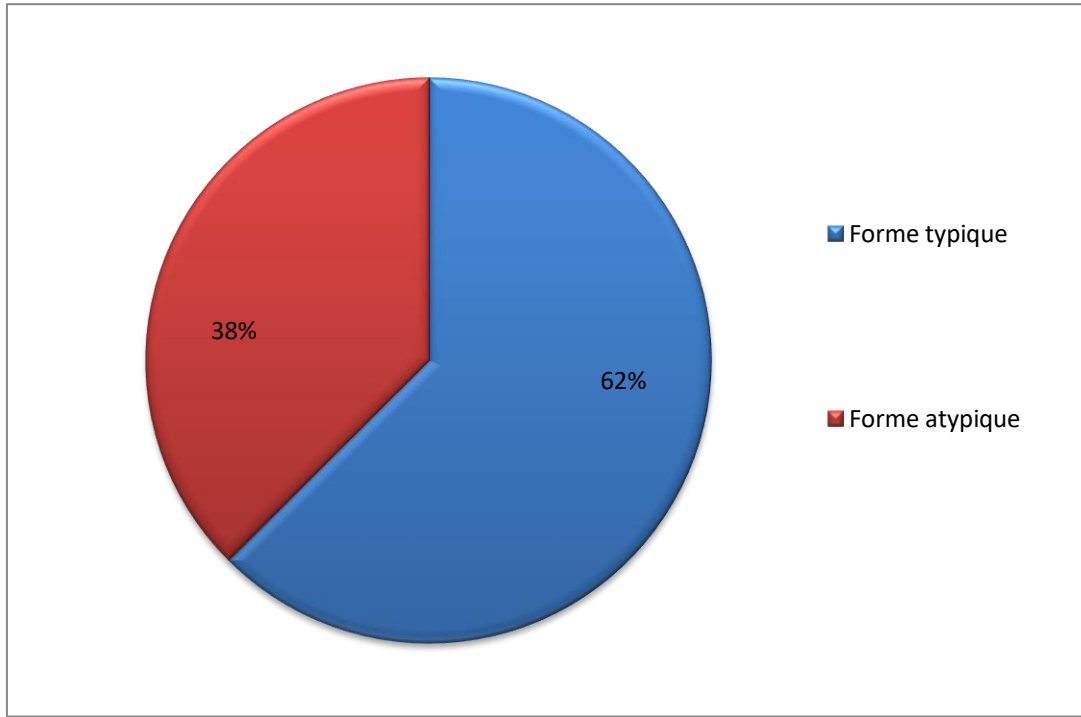


Figure 47 : Répartitions des cas de la babésiose selon la forme symptomatique

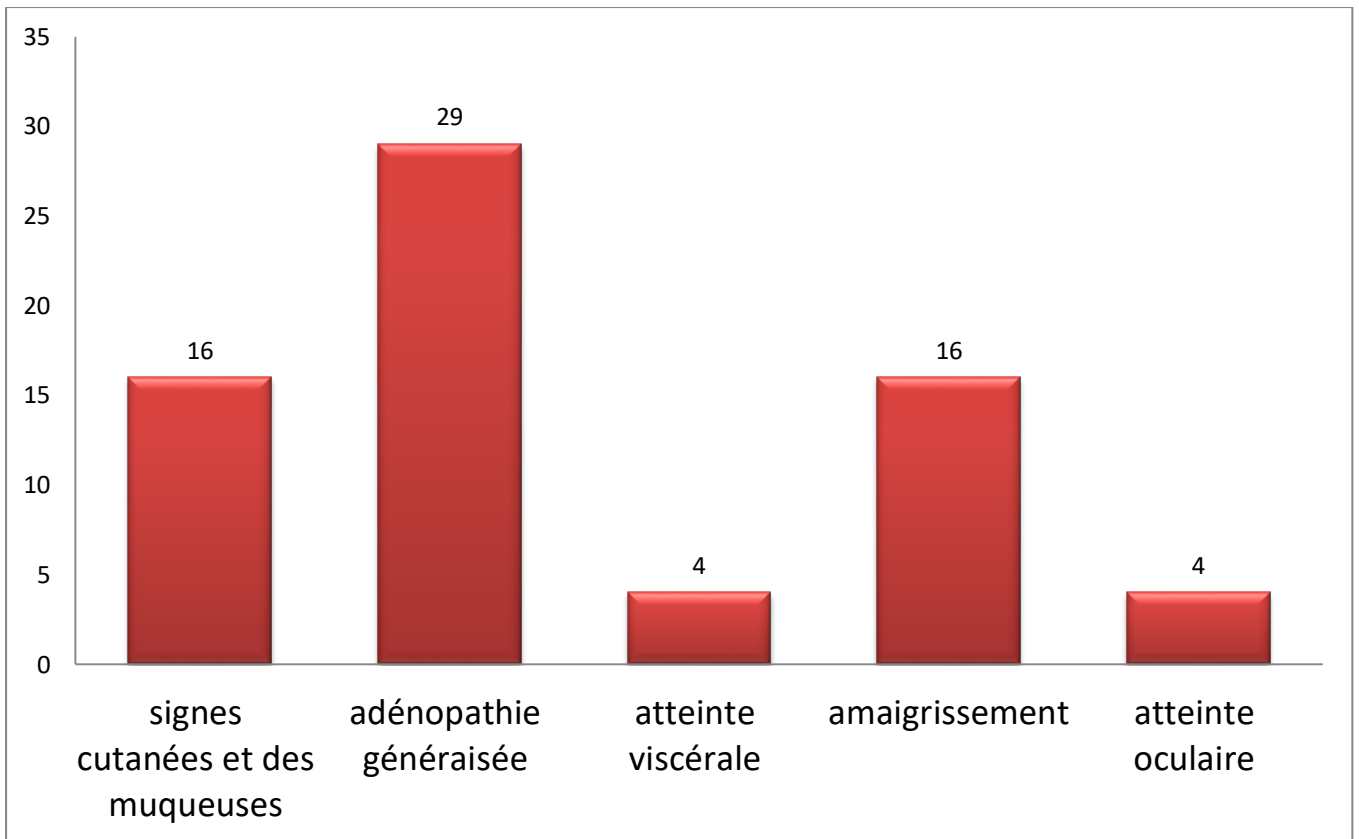


Figure 48 : Répartitions des cas de la leishmaniose selon la dominante symptomatologie

Présentation des cas :

Cas N°01 :



Figure N°49 :Braque français consulté pour une distension abdominal(posture de batracien)

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret

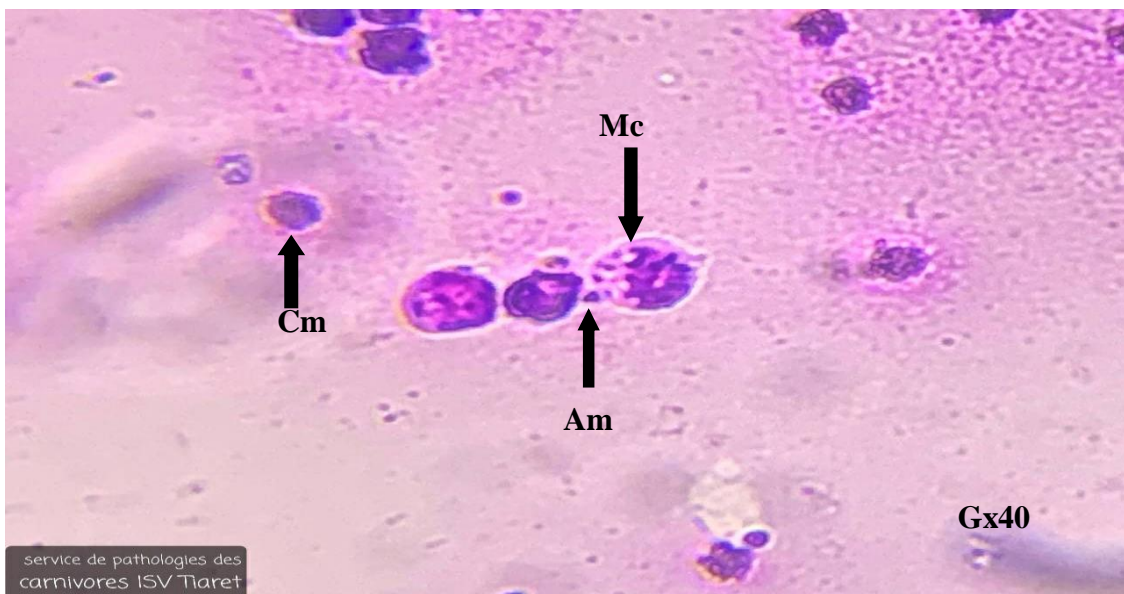


Figure 50:Vue microscopique d'un frottis de liquide d'ascite après coloration DIFF QUICK qui montre la présence d'amastigotes intra et extra cytoplasmiques (Am) des cellules mésenchymateuse (Cm) macrophage (Mc) chez un braque français (Gx 40).

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret

Cas 02



Figure 51: Akita américain consulté pour des lésions dermiques et oculaires liées à une atteinte fongique.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret



Figure 52: Akita américain consulté pour des lésions dermiques et oculaires liées à une atteinte fongique.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

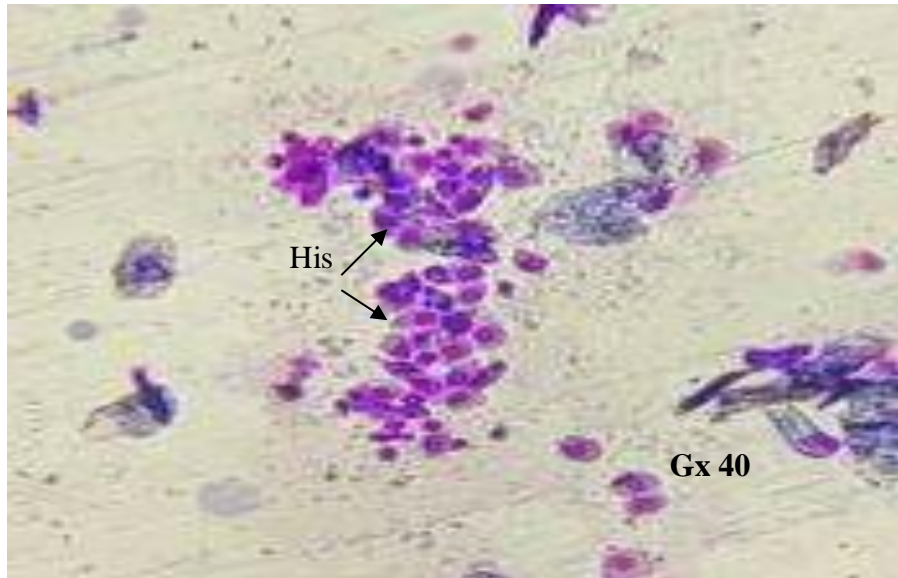


Figure 53: Vue microscopique d'un calque oculaire après coloration DIFF QUICK qui montre la présence de *Histoplasma capsulatum* (His) chez une chienne Akita américain (Gx 40).

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

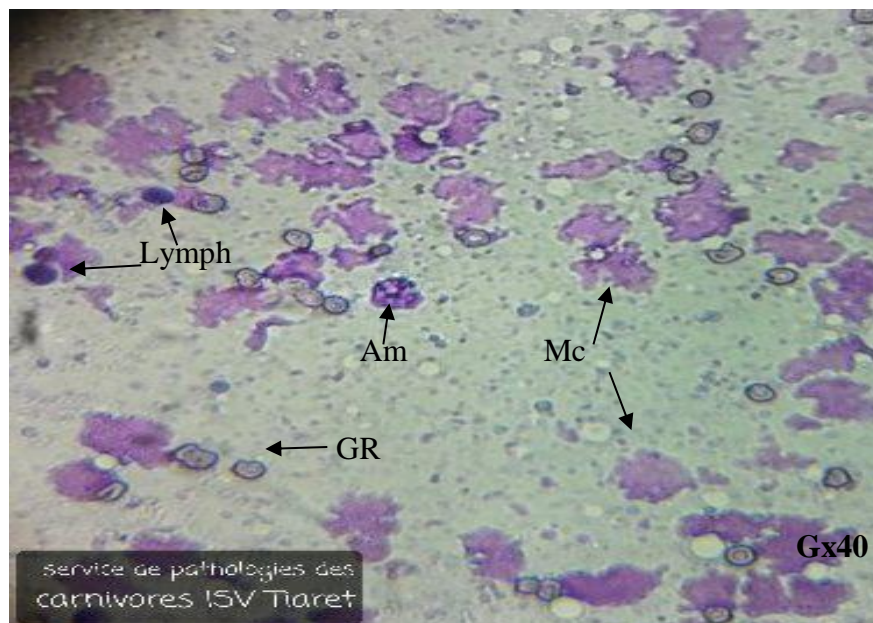


Figure 54: vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration, DIFF QUICK qui montre une adénite granulomateuse leishmanienne avec présence d'amastigotes extra cytoplasmiques (Am) des petites lymphocytes matures (Lymph) et des macrophages (Mc) et des GR (Gx40)

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

Cas 03

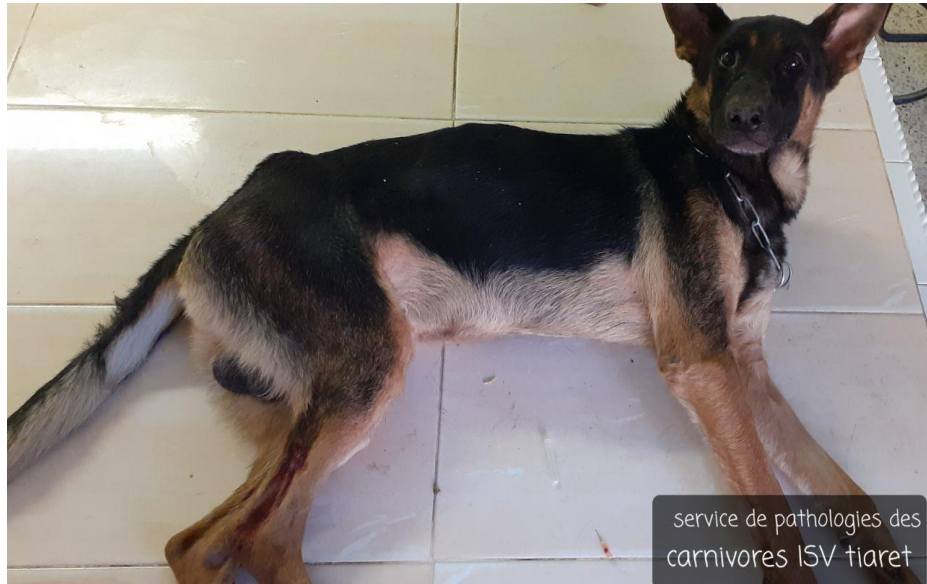


Figure 55: Berger allemand consulté pour une paralysie brutale.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

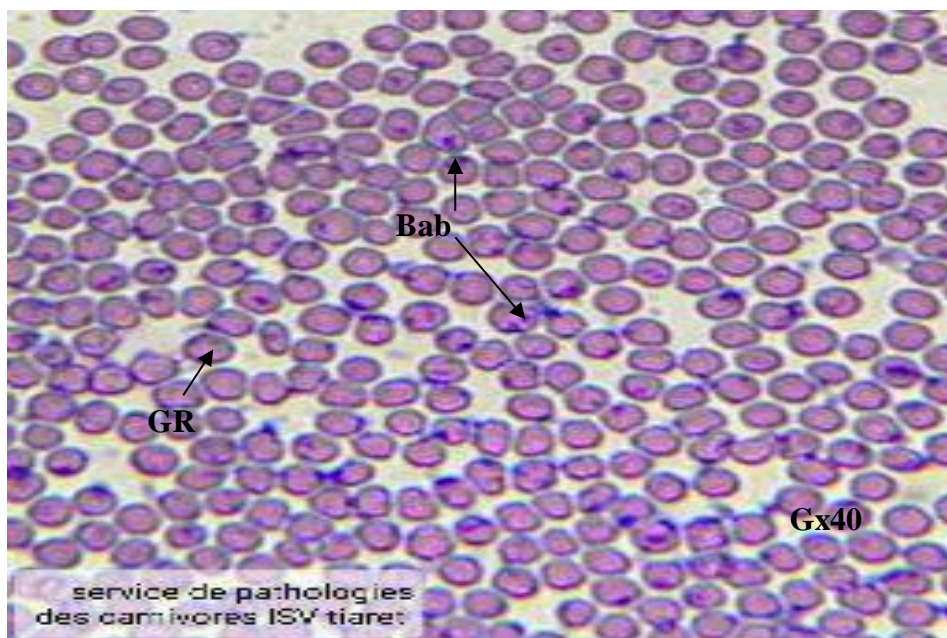


Figure 56: vue microscopique d'un frottis sanguin après coloration DIFF QUICK qui montre la présence des babésies (Bab) à l'intérieur des érythrocytes (GR) chez un Berger allemand Gx40.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

Cas 04



Figure 57:Galgo espagnol consulté pour une distension abdominale.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

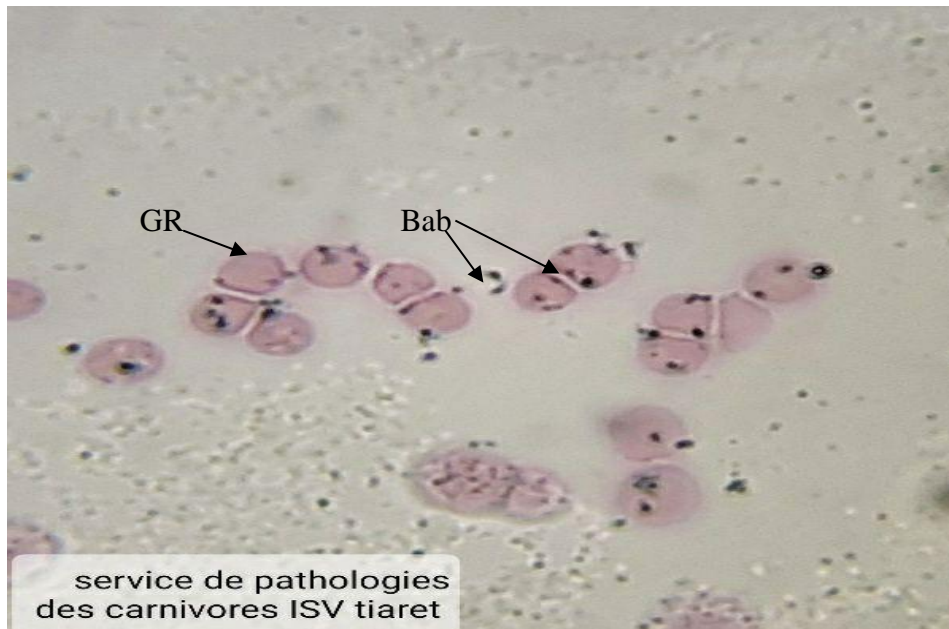


Figure 58:vue microscopique d'un frottis de liquide d'épanchement après coloration Ral555 qui montre la présence des babésies(Bab) intra et extra érythrocytaire(GR) chez un chien galgo espagnol (Gx40)

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

Cas 05



Figure 59: Rottweiler consulté pour une toux chronique et intolérance à l'effort.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret

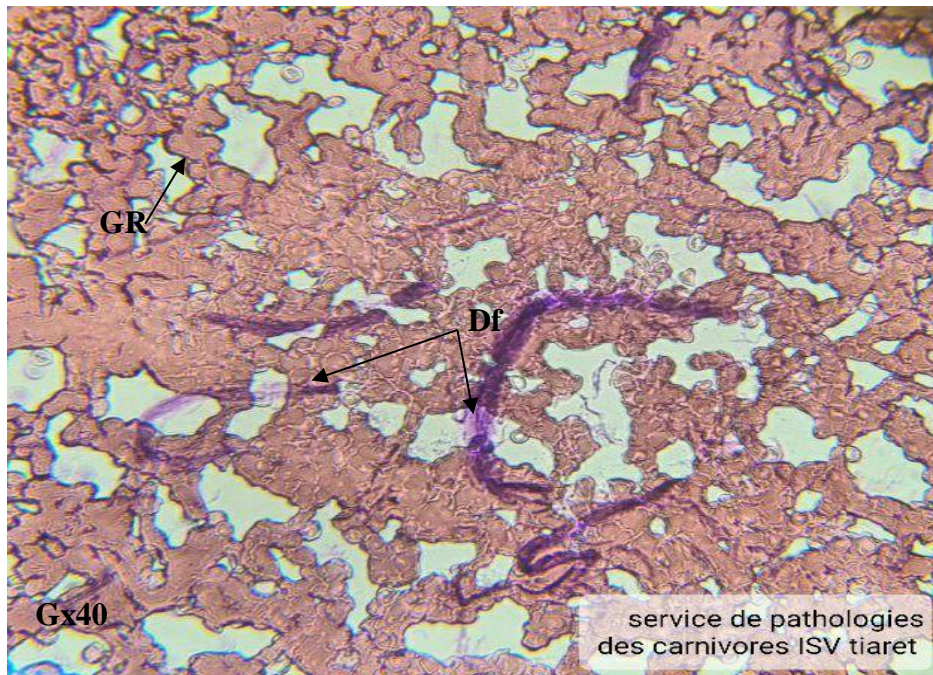


Figure 60: vue microscopique d'un frottis sanguin après coloration DIFF QUICK qui montre la présence des microfilaires (Df). (Gx40)

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret

Cas 06:



Figure 61: Berger belge consulté pour anorexie abattement et un ictère.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret



Figure 62: Berger belge consulté pour anorexie abattement et un ictère.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.



Figure 63:vue microscopique d'un frottis sanguin au après coloration DIFF QUICK qui montre la présence d'anaplasma(Ap)a l'intérieur du globule rouge(GR) chez un Berger belge malinois (Gx40).

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

Cas 07:



Figure 64:Berger allemand consulté pour un epistaxis.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

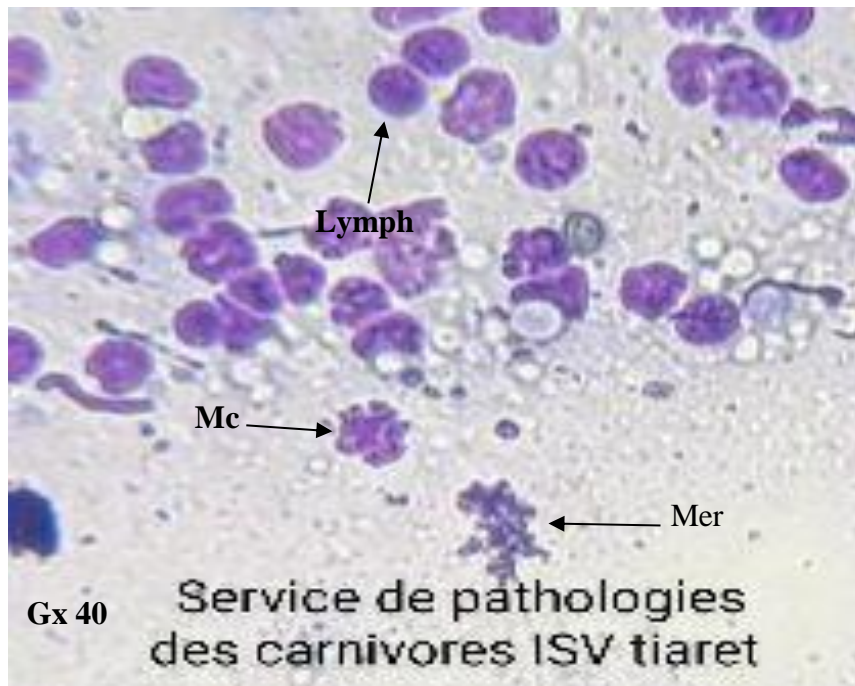


Figure 65:vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration ; MGG (Ral555) qui montre une adénite granulomateuse avec présence des morules d'ehrlichioses extra cytoplasmiques (Mer) des petits lymphocytes matures (Lymph) et de macrophages (Mc) chez un chien berger allemand.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret.

Discussion :

Durant cette étude nous avons observé des situations pathologiques différentes chez 52 cas cliniques consultés et suivis au niveau du service de pathologies des carnivores de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret.

L'examen cytologique est un outil de diagnostic non invasif qui ne nécessite pas forcément de recourir à une contention chimique de l'animal et s'avère intéressant à entreprendre car il permet de confirmer dans la plus part des cas une suspicion clinique d'une pathologie donnée. Comme dans le cas des maladies infectieuses vectorielles par exemple : la leishmaniose, ehrlichiose, anaplasmose et même dans le cas des piroplasmoses du chien ; ce qui permet de prendre en charge rapidement les cas étudiés. L'examen cytologique permet, un traitement précoce et réduit l'anxiété du propriétaire vis-à-vis de son animal en fournissant des réponses rapidement.

L'exactitude de l'examen cytologique en tant qu'outil diagnostique a été étudiée est souvent retrouvée dans la littérature humaine et vétérinaire. La plupart des études ont comparé les résultats cytologiques aux résultats histopathologique et/ou au comportement biologique de la lésion. Certaines études indiquent que la ponction-aspiration à l'aiguille fine (PAF) est plus précise que la biopsie au trocard conventionnelle (avec ou sans aspiration). L'aspiration à l'aiguille fine présente très peu de risques pour le patient. (Tyler, 2006)

Dans notre étude on a utilisé différents types des colorants (MGG, Diff-Quick, Ral555) et on a constaté qu'il existe de légères différences d'aspect du frottis coloré par ses différentes techniques. Les différences entre les colorations de type Romanowsky ne devraient pas poser de problème une fois que l'utilisateur s'est familiarisé avec une coloration en particulier (Tyler, 2006).

Notons que les critères cellulaires et parasitaires sont bien définis lorsqu'il s'agit du colorant mais le Diff-Quick reste le meilleur dans ce critère. Les colorations de type Romanowsky colorent très bien les organismes et les cytoplasmes cellulaires. (Tyler, 2006)

Nous avons également constaté que le Ral555 est le colorant le plus pratique car la durée du protocole de coloration est de 15 secondes par contre le Diff-Quick qui nécessite plus de 2 minutes et MGG environ 15 minutes.

Pour la disponibilité le Ral 555 est le plus disponible plus accessible sur le marché algérien et le moins coûteux par rapport à d'autres colorants. Les colorations de type Romanowsky sont économiques, directement disponibles et faciles à préparer, maintenir et utiliser Tyler, 2006.

Les ponctions ganglionnaires et les frottis sanguins sont les méthodes de prélèvement les plus indiquées pour leur importance dans les diagnostics rapides à cause du tropisme parasitaire. En raison de la localisation sous cutanée des ganglions lymphatiques et de leur rôle dans le drainage lymphatique et leurs implications dans de nombreuses affections locales et systémiques Tyler, 2006

Dans notre étude la préparation de calques et la cytologie des épanchements ont approuvées leur importance dans le diagnostic de certaines pathologies particulières comme le cas de la leishmaniose canine. Il faut aussi noter que la qualité du matériel utilisé et l'expérience de l'examineur et particulièrement la préparation du frottis peuvent avoir une influence sur les résultats cytologiques Tyler 2006.

Notons que durant la lecture des frottis nous avons remarqué qu'un grossissement x40 peut suffire largement à déterminer l'existence d'un protozoaire. Ceci est confirmé par Tyler 2006 qui mentionne qu'il est possible de voir la plupart des organismes visibles microscopiquement avec un objectif x40 sur tout en ayant de l'expérience, comme il est possible d'identifier certains organismes ou inclusions et confirmer l'identité des micro-organismes observés avec l'objectif x40 en utilisant un objectif x100 (à immersion).

Côté clinique on a développé la capacité de suspecter et diagnostiquer différentes pathologies à relation avec les protozoaires par la présence de l'aspect vectoriel (présence de tiques, puces etc...) et la symptomatologie évocatrice (trouble de l'hémostase ; épistaxis ; perte de poids ; lésions dermiques adénomégalies etc...). Oliva *et al.* 2004 ; Rodriguez *et al.* 2018

Une valeur de 7% soit (36/650) chiens représente le pourcentage des cas atteints d'une protozoose ce qui signifie que ce type de pathologie fait partie des maladies courantes chez l'espèce canine à côté des autres pathologies virales et bactériennes. Par contre la confirmation d'une atteinte par des protozoaires nécessite souvent le recours à la cytologie, ainsi une association d'une détermination clinique avec un examen rapide cytologique est fortement recommandée, influençant la fiabilité du traitement et le pronostic vital du chien (Cowell *et al.* 2000).

Nous avons constaté que la fréquence de la leishmaniose était plus élevée que celle des autres maladies vectorielles avec un pourcentage de 58% (30/52) chiens suivie de l'ehrlichiose qui représenté 17% des résultats (9/52). La babésiose était en troisième lieu avec d'un pourcentage de 15% soit (8 /52). La Dirofilariose et l'anaplasmose représenté de faibles pourcentages soit 6% et 4% respectivement. par contre nous n'avons pas remarqué la présence de trypanosomoses ou d'hépatozoonose. (Dawit, 2013; Sepposaari et al 2019).

Nous avons aussi remarqué que ces pathologies avaient une symptomatologie semblable malgré qu'elles ne sont pas causée par des protozoaires telle que l'ehrlichiose, l'anaplasmose et la dirofilariose. Ces dernières se manifestent cliniquement de façon similaire a la leishmaniose et la babésiose (trouble d'hémostase, adénopathie, amaigrissement, mauvais état général) de se fait le recours a l'examen cytologique est très nécessaire pour un diagnostic précis ces observations sont compatibles avec celles cités par Rodriguez *et al.* (2018).

Concernant la prédisposition raciale a la leishmaniose et la babésiose on a observé que les deux races berger allemand et berger d'atlas sont les plus prédisposés et vient par la suite la catégories des chiens de chasse (Braque allemand, lévrier, Braque français, ...et) vu leurs disciplines et leurs modes de vie, ceci est confirmé par Dawit (2013). Et Dzvet360 qui mentionnent dans leurs études que ces maladies touchent essentiellement les chiens qui vivent a l'extérieur et que le berger allemand sont les plus sensibles a ces derniers.

Durant la consultation des cas nous avons remarqué que l'impression clinique de la babésiose était variable. 62% soit (5/8) chiens présenté une forme typique (fièvre, asthénie, faiblesse musculaire) et 38% soit (3/8) présent une forme atypique donné par des troubles d'hémostase. Comme la cité Eichenberger *et al.* (2016) et Baneth (2018) dans leurs études.

Concernant la leishmaniose nous avons remarqué que l'adénopathie généralisée était le symptôme dominant avec un pourcentage de 96% soit (29/30) suivie par les signes cutanéomuqueux avec l'amaigrissement 53% soit (16/30). L'atteinte viscérale et oculaire sont moins fréquentes 13% soit (4/30) pour les deux. Les observations d'Oliva *et al.* (2004) Sanchez *et al.* (2004).; Oie, (2014) concordent avec les siennes.

De plus, durant notre étude nous avons pu diagnostiquer d'autres pathologies concomitantes à la leishmaniose ou la babésiose telles que l'ehrlichiose, l'anaplasmose la dirofilariose. Dans certaines situations les cas peuvent développer une atteinte bactérienne ou fongique secondaire à une fragilisation de la peau par l'une de ces maladies et l'existence d'un déficit immunitaire (Solano-gallego et al.2008).

Conclusion

Conclusion

L'examen cytologique en médecine vétérinaire est un outil essentiel pour établir un diagnostic précis lorsqu'un animal domestique présente des symptômes compatibles avec une suspicion clinique de leishmaniose, de babésiose ou d'autres protozooses sanguines.

En effet, la symptomatologie seule ne permet généralement pas de confirmer un diagnostic, et il est nécessaire de compléter le diagnostic clinique par un examen cytologique. Ce dernier consiste en l'observation directe des éléments étiologiques à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules, en fonction de rôle pathologique du protozoaire.

Nous espérons par la présente étude avoir seriné la différente pathologie a protozoaire chez les carnivores domestiques, d'après c'est que on a observé du travail au niveau de service de pathologie des carnivores de l'institut des sciences vétérinaire de Tiaret.

Donc en espérant que ce travail s'améliora dans des prochaines études vers l'établissement d'une situation épidémiologique au niveau de la wilaya de Tiaret sur l'incidence des ces différentes pathologies.

Résumé

Cette étude consiste à mettre en valeur l'importance de l'examen cytologique dans le diagnostic de protozooses du sang et le système lymphatique chez l'espèce Canine. Nous avons suivi, consulté et traité un nombre de 52 chiens de différentes d'âges et races durant l'année universitaire 2022-2023. Ces chiens ont été consultés au niveau du service de pathologies des carnivores, où ils ont reçu des consultations avec un suivi médical basé sur un diagnostic clinique et paraclinique.

Nous avons conclu que parmi 52 chiens consultés 38 cas présentés une atteinte à protozooses sanguine et de système lymphatique, 8 cas de babésiose et le reste du pourcentage était la leishmaniose canine.

Nous pouvons dire également conclure que ces deux pathologies sont très souvent rencontrées en médecine clinique des carnivores domestiques, essentiellement pendant la période estivale et qui correspond à la période d'activité des vecteurs. Par ailleurs, nous n'avons pas diagnostiqué autres protozooses sanguine à part ces deux grandes catégories de pathologies.

Abstract

This study consists in highlighting the importance of the cytological examination in the diagnosis of protozooses of the blood and the lymphatic system in the Canine species. We followed, consulted and treated a number of 52 dogs of different ages and breeds during the 2022-2023 academic year. These dogs were consulted at the level of the carnivore pathologies service, where they received consultations with medical follow-up based on a clinical and paraclinical diagnosis.

We concluded that among 52 dogs 32 cases presented damage to blood protozoa and lymphatic system, 8 cases babesiosis and the rest of the percentage was canine leishmaniasis.

We can also conclude that these two pathologies are very often encountered in clinical medicine of domestic carnivores, mainly during the summer period and which corresponds to the period of vector activity. Furthermore, we have not diagnosed other blood protozooses apart from these two main categories of pathologies.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى إظهار قيمة الفحص الخلوي في تشخيص طفيليات الدم و الجهاز اللمفاوي في الكلاب .

قمنا بفحص و متابعة 52 كلب من أعمار و سلالات مختلفة خلال الفترة الدراسية 2022-2023 . تم متابعة و تشخيص هذه الكلاب على مستوى جناح أمراض آكلات اللحوم الأليفة جامعة تيارت، حيث إستقادو من المتابعات و التشخيصات السريرية و الشبه سريرية إستنتجنا أنه من بين 52 كلب هناك 38 كلب مصاب بأحد الأمراض المسببة من طرف هذه الاوليات حيث انه 8 من هذه الحالات كانت مصابة بمرض بابيزيا الكلاب و 30 حالة الأخرى كانت مصابة بداء الليشمانيا يمكننا القول إن هذين المرضين شائعين في طب الحيوانات الأليفة خصوصا بالفترة الصيفية لكونها فترة نشاط الطفيليات الناقلة لهذه الأمراض . من جهة أخرى لم نقم بتشخيص أي من الأوليات الأخرى.

Référence bibliographique

1. Ayoob AL, Hackner SG, Prittie J. Clinical management of canine babesiosis. *J VetEmerg Crit Care (San Antonio)*. 2010;20:77–89.
2. Baneth G, Florin-Christensen M, Cardoso L, Schnittger L. Reclassification of *Theileria* spp. as *Babesia vulpes* sp. nov. *Parasit Vectors*. 2015;8:207
3. Bohm M, Leisewitz AL, Thompson PN, Schoeman JP. Capillary and venous *Babesia canis* parasitaemias and their association with outcome of infection and circulatory compromise. *VetParasitol*. 2006;141:18–29
4. Checa R, Montoya A, Ortega N, González-Fraga JL, Bartolomé A, Gálvez R, Marino V, Miró G. Efficacy, safety and tolerance of imidocarb dipropionate versus atovaquone or buparvaquone plus azithromycin used to treat sick dogs naturally infected with the *Babesia microti*-like piroplasm. *Parasit Vectors*. 2017;10:14 .
5. *Clinical Atlas of Small Animal Cytology* Andrew G. Burton 2018 Wiley blackwell .2:33-59.2018
6. Cowell R, Tyler R, Meinkoth J, DeNicola D. Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. *Can Vet J*. 2000;41:330.
7. Dantas-Torres F, Solano-Gallego L, Baneth G, et al. Canine leishmaniasis in the old and new worlds: unveiled similarities and differences. *Trends Parasitol*. 2012;28:531– 8
8. Dawit G. A review on biology, epidemiology and public health significance of Leishmaniasis. *J BacteriolParasitol*. 2013;4:2–7
9. Dzvetskiy S. Les maladies parasitaires des carnivores domestiques.
10. Ecole Nationale Vétérinaire @ <https://formations.univ-toulouse.fr/fr/index.html>
11. Eichenberger RM, Riond B, Willi B, Hofmann-Lehmann R, Deplazes P. Prognostic markers in acute *Babesia canis* infections. *J VetIntern Med*. 2016;30:174–82
12. ESCCAP (European scientific council companion animal parasite) : Traitement et prévention des parasitoses des carnivores domestiques .Guide de recommandation Vol 4 . 2011
13. Fernandes CB, Junior JTM, De Jesus C, et al. Comparison of two commercial vaccines against visceral leishmaniasis in dogs from endemic areas: IgG, and subclasses, parasitism, and parasite transmission by xenodiagnosis. *Vaccine*. 2014;32:1287–95 .
14. Gallego Berenguer J. *Manual de parasitología: morfología y biología de los parásitos de interés sanitario*. Barcelona: Edicions Universitat Barcelona; 2014
15. Goo YK, Jia H, Aboge GO, Terkawi MA, Kuriki K, Nakamura C, Kumagai A, Zhou J, Lee EG, Nishikawa Y, Igarashi I, Fujisaki K, Xuan X. *Babesia gibsoni*: serodiagnosis of infection in dogs by an enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant BgTRAP. *Exp Parasitol*. 2008;118:555–60

16. Kaye P, Scott P. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9:604–15 .
17. Lichtensteige&Hilf, 1994 canine and felincytology a color atlas and interprtation guide third edition
18. Marry anna thrall &al .Vétrinaryhematology , clinical chemistry and cytology , Third Editions . WileyBlackwell .45 : 752 – 772 . 2022
19. Marry anna thrall &al .Vétrinaryhematology , clinical chemistry and cytology , Third Editions . WileyBlackwell . 39 : 635 – 651 . 2022
20. Mathe A, Dobos-Kovacs M, Voros K. Histological and ultrastructural studies of renal lesions in *Babesia canis* infected dogs treated with imidocarb. *Acta Vet Hung.* 2007;55:511–23.
21. Mehlhorn H, Peters W, Haberkorn A. The formation of kinetes and oocysts in *Plasmodium gallinaceum* and considerations on phylogenetic relationships between Haemosporidia, Piroplasmida, and other Coccidia. *Protistologica.* 1980;16:135–54.
22. OIE. Leishmaniosis. In: *Terrestrial manual*; 2014. p. 1–12 .
23. Oliva G, FogliaManzillo V, Pagano A. Evoluzione dei protocolliterapeutici in corso di leishmaniosicanina. In: *Parassitologia*; 2004. p. 231–34.
24. Orell SR et al. 2005 canine and felincytology a color atlas and interprtation guide third edition
25. Otranto D, Dantas-Torres F. The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends Parasitol.* 2013;29:339–45
26. Otsuka Y, Yamasaki M, Yamato O, Maed Y. The effect of macrophages on the erythrocyte oxidative damage and the pathogenesis of anemia in *Babesia gibsoni*-infected dogs with low parasitemia. *J Vet Med Sci.* 2002;64:221–6
27. Otsuka Y, Yamasaki M, Yamato O, Maede Y. Increased generation of superoxide in erythrocytes infected with *Babesia gibsoni*. *J Vet Med Sci.* 2001;63:1077–81.
28. Piane L, et al. Spurious reticulocyte profiles in a dog with babesiosis. *Vet Clin Path.* 2016;45:594–597. 47.
29. Piane L, et al. Spurious reticulocyte profiles in dogs with large form babesiosis:a retrospective study. *Vet Clin Path.* 45:598-603.
30. Qurollo BA, Archer NR, Schreeg ME, Marr HS, Birkenheuer AJ, Haney KN, ThomasBS BEB. Improved molecular detection of *Babesia* infections in animals using a novel quantitative real-time PCR diagnostic assay targeting mitochondrial DNA. *Parasit Vectors.* 2017;10:128.
31. R. Duncan, 2006 The lymphoid system. In :Raskin RE, Meyer DJ, editor. *Atlas of canine and felingcytology.*
32. Raskin 2016 canine and felincytology a color atlas and interprtation guide third edition . *ELSEVIER Ed* .

33. Reis AB, Teixeira-Carvalho A, Vale AM, et al. Isotype patterns of immunoglobulins: hallmarks for clinical status and tissue parasite density in Brazilian dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Vet Immunol Immunopathol.* 2006;112:102–16.
34. Rodriguez & al. *Parasitic Protozoa of Farm Animals and Pets*. Springer Ed . 13 : 289-312, 2018
35. Sanchez MA, Diaz NL, Zerpa O, et al. Organ-specific immunity in canine visceral leishmaniasis: analysis of symptomatic and asymptomatic dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;70:618–24
36. Schnittger L, Rodriguez AE, Florin-Christensen M, Morrison DA. *Babesia*: a world emerging. *Infect Genet Evol.* 2012;12:1788–809
37. Sepposaariet al. *Canine parasites and Parasitic diseases .ELSEIVIER Ed .2:5-34 , 2019 .*
38. Solano-Gallego L, Baneth G. Babesiosis in dogs and cats—expanding parasitological and clinical spectra. *Vet Parasitol.* 2011;181:48–60
39. Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol.* 2009;165:1–18.
40. Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasit Vectors.* 2011;4:86
41. Solano-Gallego L, Sainz Á, Roura X, Estrada-Peña A, Miró G. A review of canine babesiosis: the European perspective. *Parasit Vectors.* 2016;9:336.
42. Solano-Gallego L, Trotta M, Carli E, Carcy B, Caldin M, Furlanello T. *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. *Vet Parasitol.* 2008;157:211–21.
43. Thorn et al. 1999 canine and feline cytology a color atlas and interpretation guide third edition
44. Tyler et al., 2006. *Guide pratique de cytologie et hématologie du chien et du chat* (Rick L. Cowell. Ronald D. Tyler. James H. Meinkoth)
45. Vincent-Johnson, N.A., Macintire, D.K., Lindsay, D.S., et al. (1997) Une nouvelle espèce d'hépatozoon chez le chien : description de l'agent causal de l'hépatozoonose canine en Amérique du Nord. *J. Parasitol.*, 83 (6), 1165-1172.
46. Yeagley TJ, Reichard MV, Hempstead JE, Allen KE, Parsons LM, White MA, Little SE, Meinkoth JH. Detection of *Babesia gibsoni* and the canine small *Babesia* 'Spanish isolate' in blood samples obtained from dogs confiscated from dog fighting operations. *J Am Vet Med Assoc.* 2009;235:535–9.