

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة 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 : Assam Nassim Massinissa

Meftouh Abdelkader

Thème

Place de l'examen cytologique dans le diagnostic des pathologies infectieuses du sang chez le chien et le chat

Soutenu le 27/ 06/2024

Jury :

Grade

Président : Pr Chikhaoui Mira

Pr

Encadrant : Dr Slimani Khaled Mabrouk

MCB

Examineur : Dr Boumezrag Assia

MCA

Année universitaire 2023-2024

Dédicace

A Mon père et ma mère, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leurs dévouements, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A ma chère sœur Kahina et mes frères Saïd, Slimane et Ghilas pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral, pour leur appui et leur encouragement,

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

A mes amis Ghilas et Yacine qui m'ont soutenu et cru en moi tout au long de mon parcours.

A mes collègues et frères Raouf, Mohamed, Obayda, Aboubaker, Mohamed, Oussama, Haïthem et tous ceux avec lesquelles on a travaillé durant cette année notamment Moustapha et Chaouki.

Ma très chère amie Sabrina qui m'a encouragé tout au long de ce travail

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.

Assam Nassim Massinissa

Dédicace :

A Mon père et ma maman pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chers frères Ismail et Amine tchipa et le venu au monde récemment Nouh pour leur appui et leur encouragement,

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

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

A mes amis oussama ,houssam et hatem et noni et hamodi et zaydo et salah et Fewaz.

A mes collègues et les frères Mahdi et Aboubaker et Nassim ,Raouf ,Mohamed et Chaouki et Mustapha et Mohamede Lamiri et Bilal .et YUCEF ET OUSSAMA ET HAITHEM

Ma chère amie Nacira qui m'a encouragé tout au long de ce travail

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

Merci d'être toujours là pour moi.

Meftouh Abdelkader

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 Mabrouk 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 de Tiaret.

Abréviations :

A/AP : Anaplasma.

ADN : Acide desoxyribonucléique.

AF : Anti-corp fonctionnel.

Am: Amastigote.

ARN : Acide ribonucléique.

B.canis: Babesia canis.

BA : Berger allemand.

Bab: Babésiose.

BB: Berger belge.

BM: Bleu de méthylène .

BRQA: Braque allemand.

CHA : chihuahua.

Cm: Cellule mésothéliale.

DA: Dogue argentin.

D : Dermatophilus .

EDTA: éthylène diamine tétra-acétique.

ELISA: enzyme-linked immunoassay.

EMC : Ehrlichiose monocytotrope canine .

E /ER : Ehrlichiose .

FS : Frottis sanguin.

G : Gauge.

G x : grossissement.

GR : Globule rouge.

HCT : hematocrite.

Hm : hemobartenelle.

LCL : local.

LCR : liquide céphalo rachidien.

Lym : Lymphocyte.

M : Mycoplasme.

Mc: Macrophage.

MGG : May–Grünwald Geimsa .

PAF /PAAF : Ponction a aiguille fine.

PCR: Polymérase Chain Réaction.

PG: ponction ganglionnaire.

PNT: Pointer.

PO : per os.

RTW: Rottweiler.

SNC : système nerveux central.

Spp : Multiples espèces.

Liste des figures :

Figure 1 : Cycle de vie de <i>Leishmania infantum</i> :(Sepposaari, 2019)	6
Figure 2 : Stades mérozoïtes de <i>Babesia canis</i> dans les érythrocytes. Frottis sanguin coloré au Giemsa.(Sepposaari, 2019)	14
Figure 3: <i>Babesia gibsoni</i> est classée dans la catégorie des <i>Babesia</i> de petite taille. Des formes typiques sont observées dans plusieurs érythrocytes. Frottis sanguin coloré au Giemsa.(Sepposaari, 2019)	15
Figure 4: Cycle de vie de <i>Babesia canis</i> :(Sepposaari, 2019)	17
Figure 5: Aspiration à l'aiguille fine à l'aide d'une aiguille et d'une seringue. (Dunn J. , 2014)...	42
Figure 6: Aspiration à l'aiguille fine à l'aide d'un pistolet d'aspiration, par ex. «Zyto-Gun®» (Soins aux animaux ScilGmbH, Viernheim, Allemagne). (Dunn J. , 2014)	43
Figure 7 : présente une illustration en plusieurs étapes de la procédure de PAAF sans aspiration :	44
Figure 8: La technique de non-aspiration avec la seringue fixée à l'aiguille est utilisée ici pour prélever la rate d'un chien présentant une ascite et un ictère sous contrôle échographique. Notez que la seringue est pré remplie d'air et est maintenue entre le pouce et l'index. (Dunn J. , 2014).	44
Figure 9 : Préparation du frottis à l'aide d'une technique de frottis sanguin.	46
Figure 10 : Prélèvement d'un écouvillon auriculaire pour examen cytologique.	47
Figure 11 : Acquisition d'une préparation de cytobrosse conjonctivale. Le matériel collecté avec la cytobrosse est déroulé sur une lame. (Dunn J. , 2014)	48
Figure12: Les étapes de préparation d'un frottis sanguin. (Thrall, , 2012).....	50
Figure 13: kit RAL 5.5.5. (DATRY A., nov.dec 1982).....	56
Figure 14: Exemple de coloration avec kit Ral	58
Figure 15: Caractéristiques de coloration :	62
Figure 16: Contamination de l'étalement avec du gel d'échographie (carcinome rénal, chien). Notez la matière granuleuse lilas irrégulière au centre de la photographie. (Dunn J. , 2014)	64
Figure 17: Une fibre végétale peut être vue dans ce fin aspirât d'aiguille d'un carcinome rénal d'un chien. Ce matériau pourrait éventuellement être confondu avec des hyphes fongiques, mais la septation claire est absente, et la mise au point et le d'épointage révèlent que le matériau est placé au-dessus des cellules. (Dunn J. , 2014)	64
Figure 18: Séchage des artefacts sur un frottis sanguin d'un chat :	65

Figure 19 : Évitez les zones des frottis où la cellularité ou l'arrière-plan est trop épais pour être évalué. Les cellules se condensent et les détails internes deviennent impossibles à évaluer. (Dunn J. , 2014).....	66
Figure 20: Neutrophiles dégénérés d'un pyothorax chez un chat. Bien qu'il soit toujours reconnaissable, les noyaux sont gonflés et déchiquetés. Des bâtonnets bactériens intracellulaires sont présents (fléchés). (Dunn J. , 2014).....	68
Figure 21: Inflammation riche en macrophages. Dans ce cas, le cytoplasme est rempli de bâtonnets non colorants (Mycobacteria spp). (Dunn J. , 2014).....	69
Figure 22 : Inflammation mixte éosinophile (un éosinophile est fléché) et neutrophile dans un lavage trachéal d'un chien atteint de bronchopneumopathie à éosinophiles. (Dunn J. , 2014)	69
Figure 23: Hyperplasie bénigne de la prostate. Les cellules et leurs noyaux sont relativement uniformes taille dans cette aspiration. La chromatine nucléaire semble pointillée. De minuscules nucléoles arrondis sont présents dans certains noyaux. (Dunn J. , 2014)	71
Figure 24: lames (CITOGLAS. REF217102 boîte de 50 PCS).....	77
Figure 25: Seringues pour ponction à aiguille fine (PRONTO SERINGUE C.I.CRETES 2.5ml, 25G. 0.50X16ml)	77
Figure 26: Les colorants May-Grunwald et Giemsa en solution (REF SPOMG-OT-1L).....	78
Figure 27: KIT RAL 555 (RAL.DIAGOSTICS).	78
Figure 28: BIO-DIFF KIT DiaScan.....	79
Figure 29 : Microscope optique (KERIN).....	80
Figure 30: Saisie du ganglion lymphatique.....	82
Figure 31: ponction du ganglion lymphatique à l'aiguille fine.	82
Figure 32: dépôt du prélèvement ganglionnaire récolté dans la lame.	83
Figure 33 : Etalement avant coloration.	83
Figure 34: prélèvement sanguine.	84
Figure 35 : préparation de frottis.....	84
Figure 36: Etalement.....	85
Figure 37: l'étape de fixation de la lame.	87
Figure 38: L'étape de fixation de coloration.....	87
Figure 39: coloration par May–Grünwald.....	89
Figure 40 : rinçage.....	89

Figure 41: préparation de GIEMSA.....	90
Figure 42 : coloration par Giemsa.....	90
Figure 43: Séchage.....	91
Figure 44 : répartition des cas diagnostiqués positifs aux maladies du sang (33 chiens) par rapport au cas consultés (547 chiens).....	100
Figure 45 : identification des maladies du sang diagnostiquées par cytologie chez l'espèce canine.	100
Figure 46 : Répartition de maladies du sang diagnostiquées par cytologie selon la race.	101
Figure 47 : Répartitions des symptômes exprimés chez les chiens atteints de leishmaniose.....	101
Figure 48 : Répartition des maladies du sang diagnostiquées par cytologie rencontré chez l'échantillon étudié de chats (6)	102
Figure 49 : Lévrier femelle âgée de 3ans consulté pour une distension abdominale (posture de batracien) avec vomissement fréquente et amaigrissement. (État de choc).....	103
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 lévrier. (40X).....	103
Figure 51 : lévrier mal âgé de 3ans ; consulté pour des lésions dermiques et les verrues au niveau de cavité buccale, avec amaigrissement.	104
Figure 52 : vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration, DIFF QUICK qui montre une adénite granulomateuse présence une co-infection (leishmanique et ehrlichiose) avec présence d'amastigotes extra cytoplasmiques (Am) et des amas bactériens(ehrlichia) intra cytoplasmique, des petits lymphocytes matures et des macrophages (Mc) et des GR (100X).	105
Figure 53 : lévrier male âgé 6 ans ; de consulté pour affaiblissement et amaigrissement	105
Figure 54: vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration, KIT RAL. Qui montre une adénite granulomateuse leishmanique avec présence d'amastigotes extra et intra cytoplasmiques (Am) des petites lymphocytes matures (Lym) et des macrophages (Mc) et des GR (100X).	106
Figure 55: chihuahua femelle âgée de 7 ans ; consulté pour amaigrissement et abattement.	106
Figure 56: vue microscopique d'un frottis sanguin après coloration DIFF QUICK qui montre la présence d'anaplasma (Ap) à l'intérieur du globule rouge (GR) chez un chihuahua (100X).	107

Figure 57: chat femelle âgée 10 ans a race locale consulté pour lésion au niveau cavité buccal.	107
Figure 58: vu microscopique de ponction ganglionnaire après coloration, DIFFQUICK présence de (Am) intra cytoplasmique (positive) . (100X).....	108
Figure 59 : siamois male âgé de 2 ans consulter pour affaiblissement et anorexie avec pâleur des muqueuses.	108
Figure 60 : vu microscopique de frottis sanguin après coloration KIT RAL 555 présence de hemobartonelle epi-celulaire (40X).	109
Figure 61 : berger Allemand femelle âgée de 3 ans qui souffre de problèmes génitaux et une infection anale.	109
Figure 62: vue microscopique de frottis sanguine de BA après coloration DIFF QUICK, présence de babesia dans les globule rouge (100X).....	110
Figure 63 : berger Allemand femelle âgée à 6 ans consultée pour asthénie et anorexie, perte de poids, douleur à la miction.	110
Figure 64 : vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration, KIT RAL. Qui montre une adénite granulomateuse ehrlichiose avec présence d'ehrlichia intra cytoplasmiques des petites lymphocytes matures (Lymph) et des macrophages (Mc) et des GR (40X).	111
Figure 65 : vue microscopique d'un frottis sanguine de BA après coloration KIT RAL, que montre la présence de morules d'ehrlichia extra cytoplasmique. (100X).....	111
Figure 66 : staffe male âgé à 6 ans consulté pour affaiblissement et amaigrissement et des lésion cutané (suspicion de leishmaniose).	112
Figure 67: vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration, DIFF QUICK, on a observé absence des AM intra et/ou extra cytoplasmique. Donc leishmaniose négative. (40 X).	112

Listes des tableaux :

Tableau 1: Cas étudiés (espèce canine).....	75
Tableau 2 : cas étudiés (espèce féline).	76
Tableau 3 : Résultats d'étude des cas canins	94
Tableau 4 : Résultats d'étude (cas félins) :.....	99

Résumé :

Notre étude a porté sur l'importance et l'intérêt de l'examen cytologique dans le diagnostic des pathologies du sang d'origine bactérienne et parasitaire chez le chien et le chat, nous avons réussi à diagnostiquer 33 chiens et 6 chats de sexes, races et d'âges différents reçus au cours de l'année universitaire 2023-2024 à la clinique de pathologies des carnivores domestiques de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret.

Parmi ces cas on a eu chez l'espèce canine 27 cas de leishmaniose dont 2 forme viscérale 3 cas de babesiose, 3 cas d'anaplasmose, 1 cas d'ehrlichiose.

Pour l'espèce féline on a eu 5 cas d'hémobartonellose féline et un cas de leishmaniose féline

Ces pathologies sont vraisemblablement présente en médecine des carnivores domestiques en étroite corrélation à l'activité vectorielle et à la spécificité de la région étudiée, tout ceci nous fait pencher à donner une importance capitale à chacune de ces pathologies et d'améliorer les méthodes de diagnostic et de chercher à acquérir la compétence de la lecture cytologique qui s'avère aujourd'hui indispensable.

Summary :

Our study focused on the importance and interest of cytological examination in the diagnosis of blood pathologies of bacterial and parasitic origin in dogs and cats, we succeeded in diagnosing 33 dogs and 6 cats of both sexes, breeds and of different ages received during the 2023-2024 academic year at the domestic carnivore pathologies clinic of the Institute of Veterinary Sciences of Tiaret.

Among these cases, there were 27 cases of leishmaniasis in the canine species, including 2 visceral forms, 3 cases of babesiosis, 3 cases of anaplasmosis, 1 case of ehrlichiosis.

For the feline species we had 5 cases of feline hemobartonellosis and one case of feline leishmaniasis.

We conclude that these pathologies are present in the medicine of domestic carnivores in close correlation to the vector activity and the specificity of the region studied, all this makes us inclined to give capital importance to each of these pathologies and to improve the methods of diagnosis and seek to acquire the skill of cytological reading which today proves essential.

ملخص:

ركزت دراستنا على أهمية واهتمام الفحص الخلوي في تشخيص أمراض الدم ذات المنشأ البكتيري والطفيلي في الكلاب والقطط، فقد نجحنا في تشخيص 33 كلباً و6 قطط من كلا الجنسين والسلالات ومن مختلف الأعمار تم استقبالها خلال عام دراسي 2023-2024 بعيادة أمراض آكلة اللحوم المنزلية بمعهد العلوم البيطرية بتيارت. ومن بين هذه الحالات، كانت هناك 27 حالة إصابة بداء الليشمانيات في فصيلة الكلاب، منها حالتان حشويتان، و3 حالات داء البابيزيا، و3 حالات داء الأنابلزما، وحالة واحدة داء إيرليخي. بالنسبة لأنواع القطط، كان لدينا 5 حالات من داء الهيموبارتونيل القططي وحالة واحدة من داء الليشمانيات القططي. نستنتج أن هذه الأمراض موجودة في طب الحيوانات الأليفة المنزلية وترتبط ارتباطاً وثيقاً بنشاط ناقلات الأمراض وخصوصية المنطقة المدروسة، كل هذا يجعلنا نميل إلى إعطاء أهمية كبيرة لكل من هذه الأمراض وتحسين طرق التشخيص. نسعى لاكتساب مهارة القراءة الخلوية التي ثبت اليوم أنها ضرورية.

Sommaire :

Introduction.....	1
Objectifs de notre étude.....	2
Partie bibliographique	3
Chapitre I : PATHOLOGIE DU SANG CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT	4
1 Leishmaniose :	5
1.1 Identification :	5
1.2 Cycle de vie :	6
1.3 Tableau clinique :	7
1.3.1 Signes dermatologiques :	7
1.3.2 Signes fréquents :	7
1.3.3 Atteinte viscérale :	8
1.3.4 Signes moins fréquents :	8
1.4 Diagnostic :	9
1.4.1 Diagnostic de laboratoire :	9
1.4.2 Diagnostic Sérologique :	10
1.4.3 Diagnostic cytologique :	10
1.4.4 Diagnostic histopathologique :	11
1.5 Traitement et prévention :	12
1.6 Leishmaniose féline :	12
1.6.1 Définition :	12
1.6.2 Etude Clinique :	12
1.6.2.1 Lésions cutanées	12
1.6.2.1 Lésions viscérales:	12
1.6.3 Diagnostic :	13
1.6.4 Traitement :	13
2 Babesiose :	14
2.1 Identification :	14
2.1.1 Transmission :	15
2.1.2 Espèces :	15
2.1.2.1 Babesia canis.....	15
2.1.2.2 Babesia gibsoni.....	16

2.1.2.3	Babesia conradae:.....	16
2.1.2.4	Babesia microti-like organisme:.....	16
2.2	Cycle évolutif :.....	17
2.3	Signes cliniques :.....	18
2.3.1	Signes généraux :.....	18
2.3.2	Signes de complications/atteinte grave :	18
2.4	Diagnostic :.....	19
2.5	Traitement et prévention :.....	20
3	EHRlichia canis :.....	21
3.1	Étiologie :.....	21
3.2	Pathogénie :.....	21
3.3	Présentation clinique :.....	22
3.3.1	Signe d'atteinte systémique :.....	22
3.3.2	Signes oculaires :.....	22
3.3.3	Signes neuromusculaires :.....	22
3.3.4	Signes cardiologiques :.....	23
3.3.5	Infections concomitantes ou secondaires :	23
3.4	Diagnostic :.....	23
3.4.1	Laboratoire :.....	24
3.4.2	Cytologie :.....	24
3.4.3	Sérologie :.....	24
3.5	Traitement :	25
4	Mycoplasmosse hémotrope (hémobartonellose) :.....	26
4.1	Mycoplasmes hémotropes chez le chat :	26
4.1.1	Etiologie :.....	26
4.1.2	Pathogénie :.....	26
4.1.3	Tableau clinique :.....	27
4.1.4	Traitement :	28
4.2	Mycoplasmes hémotropes chez le chien :	30
4.2.1	Etiologie :.....	30
4.2.2	Pathogénie :.....	30
4.2.3	Tableau clinique :.....	30
4.1.4	Diagnostic :.....	31

4.2.4.1	Laboratoire :	31
4.2.4.2	Cytologie :	31
4.2.4.3	necropsique:.....	31
4.2.5	Traitement :	32
4.2.6	Prophylaxie :	32
5	Anaplasmoses :	33
5.1	Infection à anaplasma phagocytophilum (anaplasmose granulocytotrope canine) :	33
5.1.1	Etiologie :	33
5.1.1.1	transmission :	33
5.1.2	Pathogénie :	33
5.1.3	Etude clinique :	34
5.1.4	Diagnostic :	35
5.1.4.1	diagnostic Cytologie :	35
5.1.4.1	diagnostic par PCR :	35
5.1.4.3	diagnostic sérologie :	35
5.1.5	Traitement :	36
5.1.6	Prophylaxie :	36
5.2	Infection à anaplasma platys(anaplasmose thrombocytotrope) :	37
5.2.1	Etiologie :	37
5.2.2	Pathogénie :	37
5.2.3	Diagnostic :	38
5.2.3.1	Diagnostic cytologique :	38
5.2.3.2	Diagnostic Serologique :	38
5.2.3.	Diagnostic par PCR :	38
5.2.4	Traitement et prévention :	39
Chapitre II : EXAMEN CYTOLOGIQUE		40
1	Techniques d'échantillonnage :	41
1.1	Aspiration à l'aiguille fine :	41
1.1.1	Technique d'aspiration :	42
1.1.2	Techniques de ponction sans aspiration :	43
1.2	Empreinte tissulaire :	45
1.3	Frottis d'impression/empreintes :	46

1.4 Raclures :	46
1.5 Frottis par écouvillon :	47
1.6 Brossages :	48
1.7 Les calques :	48
1.8 Prélèvement sanguin :	49
1.8.1 Préparation des frottis sanguins :	50
2 Manipulation d'échantillons de fluides pour examen cytologique :	51
3 Coloration :	52
3.1 Techniques de coloration :	52
3.2 Coloration de type ROMANOWSKY :	52
3.2.1 Coloration de May–Grünwald–Giemsa en hématologie :	53
3.2.1.1 Technique :	53
3.2.1.2 Résultats :	54
3.2.1.3 Recommandations et/ou notes d'utilisation:	55
3.2.2 Kit RAL 555 :	55
3.2.2.1 Principe :	55
3.2.2.2 Description du kit :(3 X 100ml) :	56
3.2.2.3 Recommandations et/ou notes d'utilisation :	56
3.2.2.4 Modes opératoires :	57
3.2.2.5 Résultats : (frottis sanguin):	59
3.2.3 Diff-Quikstain :	59
3.2.3.1 Principe :	59
3.2.3.2 Mode opératoire :	60
3.2.3.3 Résultats :	60
3.3 Coloration au BLEU DE METHYLENE :	61
3.4 Coloration PAPANICOLAOU :	61
4 Examen microscopique des échantillons cytologiques :	62
4.1 Principes généraux d'interprétation cytologique :	64
4.1.1 Évaluation initiale de l'échantillon :	64
4.1.2 Reconnaissance des artefacts :	64
5 Type d'Adénite :	67
5.1 Inflammation :	67
5.2 Inflammation neutrophilique :	68

5.3 Inflammation riche en macrophages ou granulomateuse :	69
5.4 Inflammation éosinophile :	70
5.5 Inflammation mixte :	71
5.6 Aspiration de tissus normaux ou hyperplasiques :	71
5.6 Néoplasie :	71
PARTIE EXPERIMENTALE	
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE	74
1 Durée et lieux d'étude :	75
2 Démarche clinique :	75
3. Matériel :	78
3.1 : Matériel utilisé pour cytologie ganglionnaire et frottis sanguine :	78
3.2 Colorants :	79
3.3 Pour la lecture des frottis :	81
4. Organigramme de démarche clinique :	82
5. Ponction ganglionnaire :	83
6. frottis sanguins :	85
7. Technique de coloration :	87
7.1 Kit RAL 555 :	87
7.2 colorations MGG :	89
CHAPITRE II : Résultats et discussion	93
Présentation des cas :	104
Discussion:	114
Conclusion:	117
Recommandation	117
Bibliographie :	118

Introduction :

Ces dernières décennies la médecine vétérinaire dans sa globalité et plus spécialement la médecine des carnivores domestiques s'est vue penché sur l'avènement de nombreuses pathologies sanguines d'origines microbiennes variées mais certaines se voient plus répandus et plus importante du coté médicale et sanitaire on parle ici notamment de maladies dues aux bactéries et au parasites on peut citer la leishmaniose la babesiose l'anaplasrose l'ehrlichiose ...etc. (Dunn J. , 2014)

A partir d'un examen clinique méthodique et logique et des connaissances suffisantes la suspicion de ces pathologies est vite faite.

En suivant les méthodes d'application et un simple prélèvement qu'il soit sanguin ou tissulaire principalement ganglionnaire, une lecture objective permet de diagnostiquer avec une très haute précision ceci avec un œil exercé du praticien le pathogènes incriminés dans la ou les pathologies présentées en clinique, donc un diagnostic précis en temps réel, ce qui permet d'établir une décision thérapeutique adéquate.

L'examen cytologique avec ces avantages c'est vu de plus en plus exploité et utilisé aujourd'hui comme un moyen indéfectible de la clinique vétérinaire. (Dunn J. , 2014)

Objectifs de notre étude :

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à évaluer l'impact réel et déterminer une valeur objective de l'examen cytologique, dans le diagnostic des différentes pathologies du sang chez l'espace canine et féline, en étudiant des cas cliniques canins et félins consultés au niveau du service de pathologies des carnivores de l'Institut des Sciences Vétérinaires de Tiaret durant la période d'octobre 2023 jusqu'au mois de mai 2024.

L'objectif recherché est d'étudier d'une part, les manifestations cliniques qui caractérisent les différentes pathologies du sang chez l'espèce canine et féline dont la majorité sont à caractère vectorielle et d'un autre part démontré l'intérêt pratique de l'utilisation du diagnostic par examen cytologique du sang ou des ponctions des nœuds lymphatiques dans la confirmation du diagnostic clinique de ses pathologies.

Partie bibliographique

**CHAPITRE I : PATHOLOGIES DU SANG
CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT**

1 Leishmaniose :

1.1 Identification :

Leishmania est un protozoaire parasite appartenant à la famille *Trypanosomatidés*. Il existe plus de 50 espèces et au moins 12 on rapporte que certains d'entre eux infectent les chiens. L'espèce la plus importante est *Leishmania infantum*. Dans le cytoplasme des cellules de mammifères, *Leishmania* est présente sous une forme amastigote non flagellée.

Il est arrondi et mesure environ 2 à 6 μm de diamètre. Le noyau, constitué du flagelle court qui est intégré dans l'extrémité antérieure sans faire saillie vers l'extérieur et d'un minuscule bâtonnet intensément coloré.

Le kinétoplaste, associé aux flagelles, peut être vu même avec un microscope optique. Dans son vecteur Arthropode, le phlébotome, *Leishmania* est présente sous la forme d'un promastigote extracellulaire. Un promastigote est allongé et à son extrémité antérieure il possède un flagelle pour un mouvement actif. Le promastigote mesure 15 à 30 μm de long et environ 5 μm d'épaisseur.(Sepposaari, 2019)

1.2 Cycle de vie :

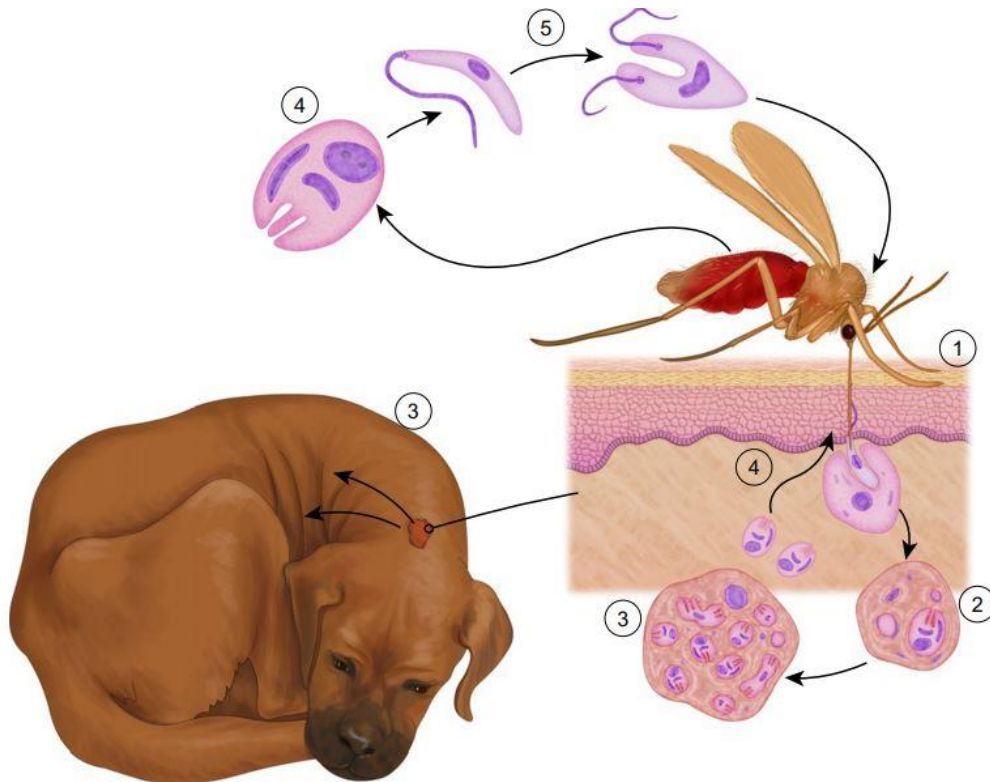


Figure 1 : Cycle de vie de *Leishmania infantum* : (Sepposaari, 2019)

(1) le chien est infecté lorsque le phlébotome, en suçant du sang, inocule des promastigotes de *Leishmania* dans la peau

(2) les formes promastigotes perdent leurs flagelles et se transforment en amastigotes. Ils infectent les macrophages attirés dans la zone par la réponse immunitaire du chien. Si les macrophages parviennent à tuer les parasites par phagocytose, l'infection disparaît.

Leishmania, cependant, dispose de nombreuses méthodes pour éviter la réponse immunitaire canine, permettant aux amastigotes de se multiplier à l'intérieur des macrophages et d'infecter ensuite de nouveaux macrophages

(3) en fonction de la réponse immunitaire canine, l'infection est éliminée, elle est contenue dans la peau, ou les macrophages la transfèrent ailleurs dans l'organisme, et elle peut évoluer vers une maladie appelée leishmaniose viscérale

(4) le phlébotome obtient des amastigotes parasites en suçant du sang

(5) les amastigotes se transforment en promastigotes, se multipliant par division, dans l'intestin du phlébotome (Sepposaari, 2019)

1.3 Tableau clinique :

La leishmaniose canine est une maladie dans laquelle l'infection n'équivaut pas à une maladie clinique en raison de la forte prévalence des infections subcliniques.

La leishmaniose canine due à *L.infantum* est souvent classée comme maladie viscérale conformément à la classification de la maladie provoquée par cet agent pathogène chez l'homme ; cependant, les chiens présentent généralement une atteinte à la fois viscérale et cutanée.

Elle est essentiellement une maladie systémique chronique pouvant potentiellement impliquer n'importe quel organe, tissu ou liquide biologique et se manifestant par une pléthore de signes cliniques. (Sergent E, 1912)

Les principaux résultats cliniques observés lors de l'examen physique dans les cas typiques de leishmaniose canine comprennent des lésions cutanées, une lymphadénomégalie locale ou généralisée, une perte de poids, une intolérance à l'exercice, une diminution de l'appétit, une léthargie, une splénomégalie, une polyurie et une polydipsie, des lésions oculaires, une épistaxis, onychogryphose, boiterie, vomissements et diarrhée. (Jimenez MI, 1995)

1.3.1 Signes dermatologiques :

- Dermatite exfoliative avec alopecie, qui peut être généralisée ou localisée sur le visage, les oreilles et les membres.
- Dermatite ulcéreuse sur les proéminences osseuses et dans les jonctions muco-cutanées, les pattes et le pavillon de l'oreille.
- Focale ou dermatite nodulaire multifocale.
- Dermatite proliférative cutanéomuqueuse.
- Dermatite papuleuse. (Moreno J N. J., 1999)

1.3.2 Signes fréquents :

Une lymphadénomégalie de multiples ganglions lymphatiques superficiels se développe fréquemment avec des ganglions lymphatiques grossissant jusqu'à deux à six fois leur taille normale et imitant parfois les résultats cliniques d'un lymphome.

La splénomégalie est également fréquemment détectée par la palpation abdominale. Environ 16 à 80,5 % des chiens diagnostiqués avec une leishmaniose canine présentent des lésions oculaires, notamment une conjonctivite, une blépharite, une kératoconjonctivite et une uvéite.

Dans certains cas, les anomalies oculaires sont les seuls signes cliniques. Des ongles anormalement longs ou cassants (onychogryphose), un constat assez spécifique, se développent chez une faible proportion de patients.

L'épistaxis est un autre signe clinique qui peut se développer en conjonction avec d'autres anomalies typiques ou comme seul signe révélateur de la leishmaniose canine.(Palacio J, 1995)

1.3.3 Atteinte viscérale :

La perte de poids et l'atrophie musculaire sont les signes les plus courants d'atteinte viscérale. Certains chiens perdent du poids malgré un appétit vorace.

Une grave aggravation de l'état est souvent associée à une maladie rénale chronique qui en résulte. Une maladie rénale chronique évolutive peut s'accompagner d'anorexie, de dépression mentale, de polyurie, de polydipsie et de vomissements. Une diarrhée passagère peut survenir.

La maladie rénale peut être la seule anomalie apparente chez les chiens atteints de leishmaniose ; les chiens atteints de cette maladie dans les zones endémiques doivent être testés pour l'infection à *Leishmania*.

En cas de maladie manifeste, une diminution de l'activité physique est évidente et liée à la somnolence, à une diminution de l'endurance et à des troubles de la locomotion.

Les troubles de la locomotion peuvent être causés par des névralgies polyarthrite érosive et non érosive, polymyosite, fentes plantaires, ulcères interdigitaux, lésions ostéoarticulaires et ostéolytiques ou périostite proliférative. Une paraparésie a été rapportée chez un chien en raison de la formation d'un granulome dans le canal vertébral. La température corporelle rectale peut fluctuer mais elle est généralement normale ou subfébrile.(Cauduro A, 2011)

1.3.4 Signes moins fréquents :

D'autres manifestations moins courantes peuvent inclure la tamponnade péricardique, myosite masticatoire, pancréatite, méningite, colite chronique, pemphigus, et polyarthrite.

Une rhombose s'est également produite à la suite du syndrome néphrotique provoqué par une glomérulonéphrite.

Des signes provoqués par une coagulation intravasculaire disséminée ou ses complications peuvent survenir. (Foglia Manzillo VF, 2005)

1.4 Diagnostic :

Le diagnostic précis de la leishmaniose clinique nécessite souvent une approche intégrée comprenant des tests clinicopathologiques et des tests diagnostiques spécifiques.

Les tests spécifiques comprennent la mise en évidence microscopique des parasites dans des préparations cytologiques ou des échantillons histopathologiques, la sérologie, la culture de l'organisme dans un milieu approprié ou la détection de l'ADN du parasite à l'aide de méthodes moléculaires. (Sergent E, 1912)

1.4.1 Diagnostic de laboratoire :

Les résultats biochimiques sériques les plus cohérents chez les chiens atteints de leishmaniose clinique sont une hyperprotéïnémie sérique avec hyperglobulinémie et hypoalbuminémie entraînant une diminution du rapport albumine/globuline.

Une protéinurie et certaines anomalies rénales se développent chez la plupart des chiens atteints de cette maladie, et une maladie rénale ultérieure causée par une glomérulonéphrite à complexes immuns se développe finalement chez les chiens atteints d'un dysfonctionnement rénal pathologique progressif.

Le rapport protéines urinaires/créatinine et l'enzymurie ont été proposés comme tests pour évaluer les lésions rénales chez les animaux affectés.

Une anémie non régénérative légère à modérée est fréquemment observée. Une leucocytose légère, une leucopénie et une pancytopénie sont des résultats incohérents.

Cependant, une lymphopénie est fréquemment signalée chez les chiens atteints de leishmaniose. Une hyperviscosité sérique, une thrombocytopathie, une thrombocytopénie secondaire à médiation immunitaire, une hémostase secondaire altérée et une fibrinolyse peuvent également être détectées.

Les parasites sont rarement détectés dans les frottis sanguins périphériques. Une inflammation lymphocytaire et neutrophile est observée avec des amastigotes de *Leishmania* dans le liquide synovial chez les chiens atteints de polyarthrite érosive et non érosive.

Les chiens présentant des signes neurologiques présentent le plus souvent une pléocytose lymphocytaire. (Schaer M, 1985) (J, 2001)

1.4.2 Diagnostic Sérologique :

Diverses méthodes sérologiques ont été utilisées pour détecter les anticorps sériques anti-*Leishmania*.

Les méthodes comprennent le test d'anticorps fluorescent indirect, le test immuno-enzymatique (ELISA), l'immunochromatographie avec des appareils rapides en interne, les tests d'agglutination directe et le transfert Western.

Une réactivité croisée avec différents agents pathogènes est possible avec certains tests sérologiques, en particulier ceux basés sur l'antigène du parasite entier. Une réactivité croisée a été signalée avec d'autres espèces de *Leishmania* et de *Trypanosoma*.

En revanche, une réactivité croisée est moins susceptible de se produire contre *Babesia canis* et *Ehrlichia canis*. (Moreno J A. J., 2002)

1.4.3 Diagnostic cytologique :

Le diagnostic peut être basé sur l'identification cytologique ou histologique des amastigotes, contenus dans les macrophages ou libres dans les frottis colorés de façon routinière.

Les organismes sont souvent trouvés dans les ganglions lymphatiques, les aspirats spléniques, les empreintes cutanées, la moelle osseuse ou d'autres tissus et liquides corporels.

La spécificité de ces méthodes est pratiquement de 100 %, mais selon le temps passé à rechercher les parasites, la sensibilité maximale est de plus ou moins 80 % chez les chiens présentant des signes cliniques de la maladie et inférieure chez les chiens séropositifs infectés de façon subclinique.

Les études cytologiques peuvent révéler peu ou pas de parasites démontrables chez les chiens présentant des signes cliniques manifestes de la maladie.

L'identification des amastigotes dans des sections fixées au formol et incluses dans la paraffine de la peau canine ou des tissus viscéraux peut être facilitée par des méthodes immunohistochimiques telles que la coloration à l'immunoperoxydase. (Ferreira Sde A, 2008)

1.4.4 Diagnostic histopathologique :

Une hyperplasie lymphoïde réactive est observée dans les organes lymphoïdes, notamment les ganglions lymphatiques et la rate, en association avec une hyperplasie monocytaire dans la rate et la moelle osseuse et un nombre variable d'amastigotes de *Leishmania*.

Les lésions rénales comprennent la glomérulonéphrite, la néphrite tubulo-interstitielle et, rarement, l'amylose. La glomérulonéphrite membranoproliférative est plus fréquemment associée à une maladie rénale chronique. (Papadopoulou C, 2005)

1.5 Traitement et prévention :

L'antimoniote de méglumine ou la miltéfosine sont utilisés pour le traitement médical de la leishmaniose, souvent associés à l'allopurinol.

L'état du patient s'améliore après le début du traitement, mais la guérison peut prendre des mois. Il est courant que le patient subisse une rechute de la maladie après le traitement médical. Après le début du traitement, les chances de visualiser des amastigotes dans son histopathologie ou sa cytologie sont assez faibles.

Des vaccins ont été développés contre la leishmaniose canine, mais leur efficacité n'est pas parfaite. Néanmoins, la vaccination sera probablement la solution d'avenir pour lutter contre *Leishmania*. L'utilisation d'insectifuges pour protéger les chiens dans les zones endémiques est indiquée.

Les infections peuvent également être évitées en confinant les chiens à l'intérieur au crépuscule et aux heures sombres de la journée, lorsque les phlébotomes sont actifs. Lorsque les chiens dorment dehors, il est important de les couvrir d'une moustiquaire. Les chiens importés de zones endémiques présentent un risque pour les autres chiens.

Étant donné que les arthropodes hématophages autres que le phlébotome peut également agir comme vecteurs, les ectoparasites doivent être contrôlés. Le risque de Leishmaniose doit être pris en compte lors de l'exploitation d'une banque de sang canine. (Sepposaari, 2019)

1.6 Leishmaniose féline :

1.6.1 Définition :

L'infection par *Leishmania* chez un chat domestique a été décrite pour la première fois en 1912 en Algérie à partir de la moelle osseuse d'un chaton de 4 mois vivant dans la même maison où un chien et un enfant étaient atteints de leishmaniose.

Depuis, lors des cas cliniques et des infections subcliniques ont été signalés sporadiquement dans les régions et pays suivants où la leishmaniose canine est endémique : Europe du Sud, Afrique du Nord, Irak, Iran et Amérique centrale et du Sud.

Là où elle survient, la leishmaniose féline est rare et peut être causée par plusieurs espèces de leishmaniose.(Sanchez-Robert E, 2008)

1.6.2 Etude Clinique :

Les lésions les plus fréquemment décrites dans la leishmaniose féline causée par *L. infantum* sont :

1.6.2.1 Lésions cutanées :

Croûtes ulcéreuses et une dermatite nodulaire, une alopecie et une desquamation affectant principalement le visage et les oreilles.

1.6.2.2 Lésions viscérales :

Les formes viscérales de la maladie avec atteinte de la rate, du foie, de la moelle osseuse, des ganglions lymphatiques, de l'uvéa et des reins ont été moins fréquemment décrites et sont considérées comme associées à une immunosuppression causée par des infections par le virus de la leucémie féline et le virus de l'immunodéficience féline ou d'autres maladies concomitantes.

Un chat présentait une atteinte viscérale comprenant une hépatosplénomégalie, un ictère, une gastroentérite lymphoplasmocytaire avec de nombreux parasites *Leishmania* et une glomérulonéphrite membraneuse.(Guarga JL, 2000)

1.6.3 Diagnostic :

Un cas de pancytopenie a été signalé chez un chat avec des amastigotes dans les frottis sanguins, la moelle osseuse, la rate et les ganglions lymphatiques. Comme chez les chiens, l'hyperprotéinémie avec hypergammaglobulinémie est une constatation courante dans la leishmaniose féline. Les titres d'anticorps sériques contre l'antigène de *Leishmania* variaient de faibles à élevés. Le diagnostic a

été établi dans la majorité des cas par des méthodes sérologiques, cytologiques, histologiques ou PCR.(Scalone A, 2002)

1.6.4 Traitement :

Très peu d'informations publiées sont disponibles sur le traitement médicamenteux de la leishmaniose féline.

En Espagne, un chat présentant des lésions principalement cutanées a été traité avec 5 mg/kg d'antimoniote de méglumine par voie sous-cutanée associé à 10 mg/kg de kétoconazole par voie orale. Un traitement combiné de 4 semaines a été répété trois fois, avec 10 jours sans traitement entre chaque traitement, et a entraîné la disparition des lésions cutanées.

Un traitement réussi des chats avec une amélioration clinique a été obtenu dans la majorité des cas avec 5 à 10 mg/kg d'allopurinol, administré deux fois par jour.

Les chats atteints de formes disséminées d'infection nécessitent un traitement plus long à l'allopurinol d'au moins 6 mois par rapport au traitement plus court signalé comme bénéfique pour les chats présentant uniquement des lésions cutanées.

Le traitement topique d'une infection cutanée à *L. mexicana* chez un chat avec du clotrimazole puis de la paromomycine n'a pas amélioré les lésions dermiques.(Barbosa Santos EG, 1998)

2 Babesiose :

2.1 Identification :

Babesia spp sont des parasites protozoaires intra érythrocytaires du phylum Apicomplexa qui sont fréquemment transmis par les tiques. Plus de 100 espèces de *Babesia* ont été décrites et, avec l'avènement des techniques moléculaires telles que la réaction en chaîne par polymérase (PCR), de nombreuses nouvelles espèces et génotypes sont identifiés chaque année.

Historiquement, les espèces ont été nommées et identifiées en fonction de l'hôte vertébré et de la taille du parasite. En fonction du phénotype morphologique, elles sont divisées en deux catégories, grandes et petites. Les grandes *Babesia spp.* ont tendance à mesurer de 3 à 7 μ m de long, tandis que les petites *Babesia spp.* ont tendance à mesurer de 1 à 3 μ m de long.(Sepposaari, 2019)

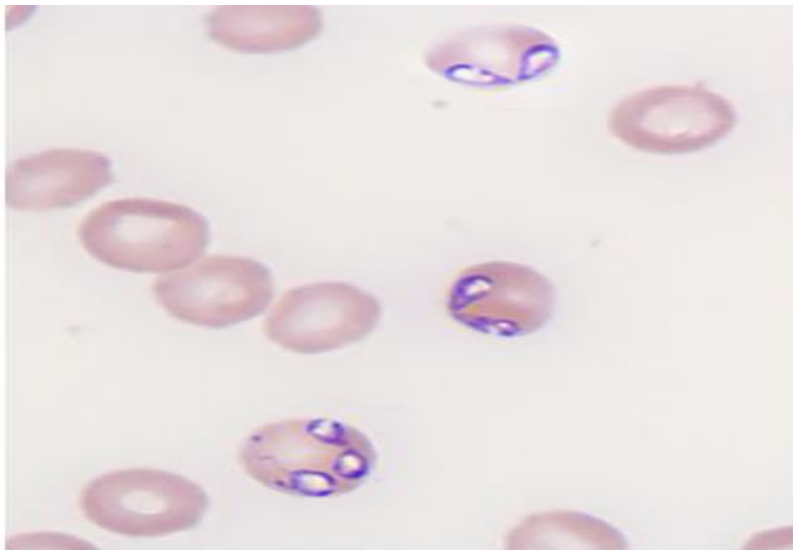


Figure 2 : Stades mérozoïtes de *Babesia canis* dans les érythrocytes. Frottis sanguin coloré au Giemsa.(Sepposaari, 2019)

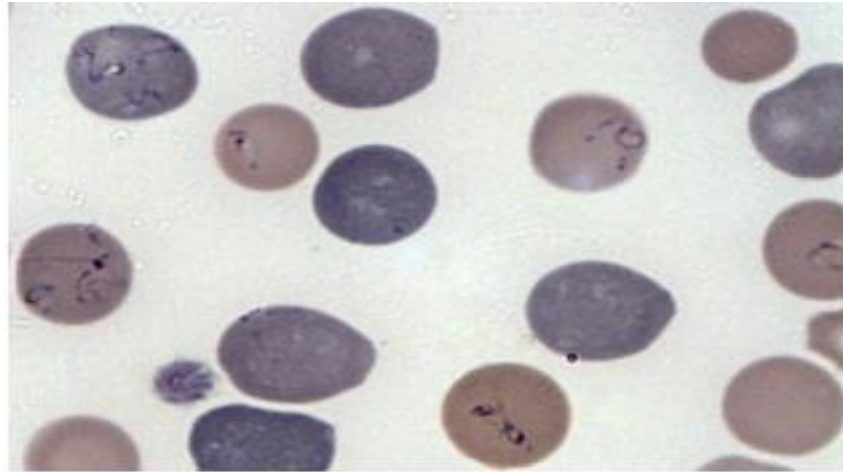


Figure 3: *Babesia gibsoni* est classée dans la catégorie des *Babesia* de petite taille. Des formes typiques sont observées dans plusieurs érythrocytes. Frottis sanguin coloré au Giemsa.(Sepposaari, 2019)

2.1.1 Transmission :

Dans la plupart des régions du monde, les vecteurs de tiques sont le principal moyen de transmission. La transmission directe entre chiens, par contact lors de combats ou par transmission transplacentaire congénitale.

Les variations des modes de transmission dans ces régions pourraient entraîner des résultats cliniques différents. Étant donné que la reproduction sexuée de *Babesia* spp. se produit dans la tique, il a été suggéré que la transmission non associée au vecteur peut conduire à l'expansion d'infections clonales génétiquement similaires et, par conséquent, à une résistance potentielle généralisée aux médicaments dans une population animale.(Welc-Faleciak R, 2009)

2.1.2 Espèces :

2.1.2.1 *Babesia canis* :

- *B. canis* est la plus commune des grandes espèces de *Babesia* et compte trois sous-espèces distinctes : *B. canis vogeli*, *B. canis canis* et *B. canis rossi*.
- *B. canis vogeli* est transmis par la tique brune du chien (*Rhipicephalus sanguineus*) et sa répartition est presque mondiale
- *B. canis canis* est transmis par la tique ornée de la vache, *Dermacentor reticulatus*, mais il existe des preuves moléculaires que *R. sanguineus* pourrait également être un vecteur.

- *B. canis rossi* est transmis par la tique jaune du chien, *Haemaphysalis lliptica* (anciennement *Haemaphysalis leachi*). (Sinha BP, Treatment of clinical cases of canine babesiosis, 1986)

2.1.2.2 Babesia gibsoni :

B.gibsoni est transmis par *Haemaphysalis bispinosa* et *Haemaphysalis longicornis*. Il existe peu de preuves que *R. sanguineus* puisse être un vecteur potentiel, mais la transmission n'a jamais été démontrée de manière convaincante. Des infections à *B. gibsoni* surviennent dans le monde entier et la nature insidieuse de cette infection a permis le transport accidentel de chiens infectés d'Asie vers d'autres régions. (Koster LS, 2009)

2.1.2.3 Babesia conradae :

B.conradae n'a été isolé que chez des chiens dans le sud de la Californie, et les tiques vectrices n'ont pas été identifiées.

2.1.2.4 Babesia microti–Like Organismes :

Un parasite de type *B.microti* (également appelé *Babesiaanna* ou *Theileriaanna* dans la littérature) a été identifié chez des chiens domestiques d'Europe et d'Amérique du Nord. (Camacho AT, 2003)

2.2 Cycle évolutif :

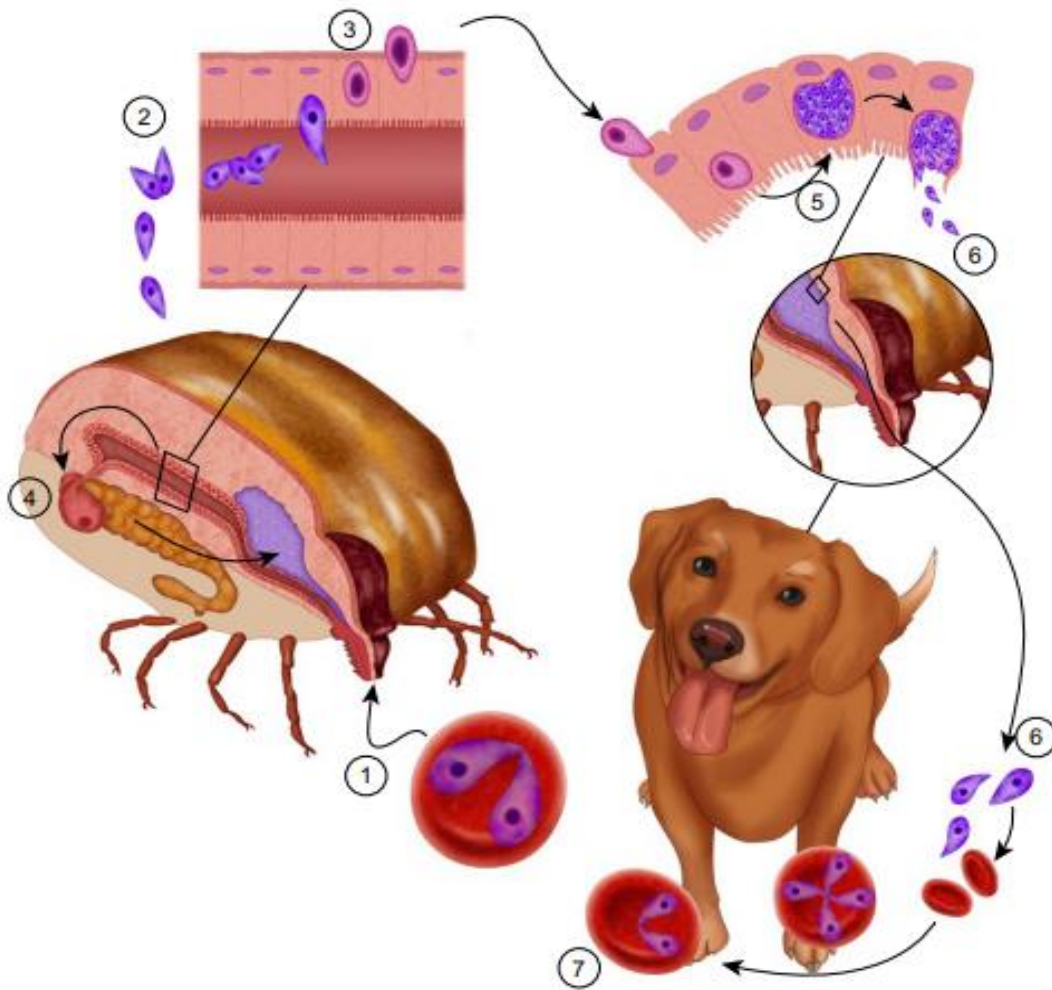


Figure 4: Cycle de vie de *Babesia canis* : (Sepposaari, 2019)

(1) la tique ingère des mérozoïtes de *Babesia* en suçant du sang. Les mérozoïtes libérés par les érythrocytes désintégrés changent de forme, développant des appendices épineux et filamenteux ;

(2) deux *Babesia* avec des appendices, ou corps de rayon, se rejoignent pour former un zygote, suivi d'un stade appelé kinète ;

(3) les kinètes migrent de l'intestin vers d'autres parties de la tique et infectent différents types de cellules, notamment les cellules musculaires, les cellules des tubes de Malpighi, les cellules ovariennes et les gonades.

(4) *Babesia* peut passer dans la progéniture de la tique femelle dans les gamètes. Les kinètes intracellulaires changent de forme et passent par plusieurs cycles de division. Le résultat est le développement de nouveaux kinètes. Ceux-ci pénètrent également dans l'épithélium des glandes salivaires.

(5) lorsque la tique suce le sang d'un chien au cours de son prochain stade de développement, les parasites de la glande salivaire s'activent et commencent à se diviser, ce qui donne naissance à un grand nombre de sporozoïtes.

(6) les sporozoïtes envahissent les canaux salivaires du chien lorsque le sang est aspiré. Le transfert a généralement lieu environ deux jours après la fixation de la tique.

(7) chez le chien, les sporozoïtes infectent les érythrocytes et s'y multiplient de manière asexuée. Ces nouveaux *Babesia* infectent davantage de globules rouges. (Sepposaari, 2019)

2.3 Signes cliniques :

2.3.1 Signes généraux :

Les manifestations cliniques des infections à *Babesia* sont difficiles à généraliser. Le spectre des signes cliniques peut varier autant au sein d'une même espèce de *Babesia* qu'entre les espèces de *Babesia*.

Cependant, certaines caractéristiques qui devraient systématiquement inciter les cliniciens à suspecter une babésiose comprennent la fièvre, la thrombocytopénie, l'anémie hémolytique et la splénomégalie.

Les chiens présentent souvent des signes non spécifiques tels que la léthargie, l'anorexie et la faiblesse. Parfois, les propriétaires remarqueront jaunisse, muqueuses pâles ou décoloration de l'urine causée par une bilirubinurie ou une hémoglobininurie. (Ishibashi T, 1995)

2.3.2 Signes de complications/atteinte grave :

- Insuffisance rénale aiguë et atteinte rénale :

Il s'agit notamment de signes d'anurie ou d'oligurie malgré une réhydratation adéquate, mais il s'agit de complications rares

CHAPITRE I : PATHOLOGIES DU SANG CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT

- Babésiose cérébrale :

Les signes, typiques d'un début suraigu, comprennent une combinaison d'incoordination, de parésie des membres pelviens, de tremblements musculaires, de nystagmus, d'anisocorie, de perte de conscience intermittente, de convulsions, de stupeur, de coma, d'agressivité, de pagayage ou de vocalisation.

- Coagulopathie :

Une thrombocytopénie profonde ; cependant, les hémorragies cliniquement apparentes sont relativement rares.

- Anémie hémolytique à médiation immunitaire :

L'anémie hémolytique à médiation immunitaire est une destruction accrue des érythrocytes causée par des anticorps associés à la membrane érythrocytaire.

- Altérations cardiaques :

Dans une étude, les chiens atteints d'une IMHA compliquée et concomitante et d'une babésiose présentaient des concentrations sériques de troponine cardiaque I et T significativement plus élevées.(Itoh N, 1990)(Depoix D, 2002)

2.4 Diagnostic :

Les organismes *Babesia* peuvent être observés dans un frottis sanguin coloré.

La sensibilité du frottis peut être améliorée en perforant une veine capillaire périphérique (par exemple, l'extrémité du pavillon ou de la queue), afin de produire un nombre maximal d'érythrocytes porteurs de protozoaires.

Les globules rouges infectés sont souvent trouvés dans les bords du frottis. Dans un frottis sanguin coloré au Giemsa, les parasites sont visibles à l'intérieur des érythrocytes et l'évaluation morphologique peut révéler si la *Babesia* est de type petit ou grand.

Plusieurs tests immunologiques commerciaux sont disponibles. L'espèce *Babesia* est déterminée par des méthodes PCR et également par des tests ELISA. Il est thérapeutiquement important de distinguer les *Babesia* de grande et de petite taille, car elles sont sensibles à différents médicaments. D'autres signes hématologiques dans la babésiose reflètent l'anémie hémolytique causée par l'infection.(Sepposaari, 2019)

2.5 Traitement et prévention :

Dans les zones d'endémie des tiques vectrices, les chiens doivent être protégés par un traitement préventif continu pendant toute la durée de la saison des tiques. Les tiques attachées doivent être retirées sans délai, car la transmission de la maladie transmise par les tiques dure quelques jours, et dans le cas de *B. canis* au moins 48 h.

Des vaccins contre *Babesia* sont disponibles dans certains pays. Ils n'arrêtent pas l'infection, mais préviennent l'apparition de signes graves. L'efficacité du vaccin dépend de l'espèce de *Babesia*.

Chaque fois que des chiens reçoivent une transfusion sanguine, le statut *Babesia* du donneur doit être vérifié pour éviter une infection iatrogène. La maladie causée par les grandes *Babesia* est traitée par l'imidocarbe administré deux fois à 2 semaines d'intervalle.

Les petites *Babesia* sont plus difficiles à gérer. Les recommandations thérapeutiques varient, notamment le traitement par atovaquone associé à l'azitromycine tous les jours pendant 10 jours. Un traitement symptomatique est également nécessaire. Le pronostic d'un chien traité est bon, mais dépend naturellement du traitement et de l'espèce de *Babesia*. Il est important de se rappeler qu'un chien infecté est considéré comme porteur de *Babesia* même après avoir été guéri de la maladie.(Sepposaari, 2019)

3 EHRlichia CANIS :

3.1 Étiologie :

L'ehrlichiose monocytotrope canine (EMC) est causée par l'organisme intracellulaire obligatoire *E. canis*. Cette petite bactérie coccoïde pléomorphe à Gram négatif apparaît en intra cytoplasmique dans les monocytes et les macrophages dans des groupes d'organismes appelés morulae. L'organisme a été initialement identifié chez les chiens par Donetein et Lestoquard en Algérie en 1935.

Cependant, la maladie n'a pas suscité beaucoup d'attention jusqu'à ce qu'un grand nombre de chiens militaires américains, dont beaucoup étaient des bergers allemands très sensibles, meurent de la maladie pendant la guerre du Vietnam. *E. canis* a fait l'objet d'une attention accrue à la fin des années 1980, lorsque la rickettsie a été soupçonnée à tort d'infecter les humains.

Cependant, en 1991, une nouvelle espèce du genre *Ehrlichia*, *E. chaffeensis*, s'est avérée être la cause de l'ehrlichiose monocytotrope humaine.(JS, The ehrlichiosis: an overview, 1999)

3.2 Pathogénie :

La période d'incubation de l'EMC est de 8 à 20 jours. Les organismes se multiplient dans les macrophages du système phagocytaire mononucléaire par fission binaire et se propagent dans tout le corps.

La réplication dans l'hôte a lieu dans des vacuoles isolées liées à la membrane, protégées du système de surveillance immunitaire de l'hôte, des lysosomes et des intermédiaires réactifs à l'oxygène.

Un mécanisme d'adaptation qui permet aux *Ehrlichia* de résider dans les vacuoles et de communiquer avec la cellule hôte via le réticulum endoplasmique a été identifié dans un groupe de gènes d'ankyrine codant des protéines qui sont censées servir de médiateur à des interactions protéine-protéine spécifiques. Les *Ehrlichia* peuvent être libérées pour infecter de nouvelles cellules, par rupture de la membrane de la cellule hôte à un stade tardif de la formation des morulas.(Wamsley H, 2007)

3.3 Présentation clinique :

3.3.1 Signe d'atteinte systémique :

Les infections à *E. canis* peuvent être aiguës, subcliniques ou chroniques chez les chiens. Les signes cliniques courants comprennent la dépression, la léthargie, l'anorexie, la perte de poids et les tendances hémorragiques.

Le saignement se manifeste généralement par des pétéchies cutanées ou des ecchymoses, ou les deux. L'épistaxis est fréquemment observée chez les chiens. L'examen physique peut également révéler une lymphadénomégalie et une splénomégalie chez 20 % et 25 % des patients, respectivement. (Pusterla N, 2000)

3.3.2 Signes oculaires :

Les chiens peuvent présenter des changements de couleur ou d'apparence des yeux ou peuvent développer une cécité en raison d'une para protéinémie, d'une hypertension systémique, d'un hyphéma, d'une hémorragie sous-rétinienne et d'un décollement de la rétine.

L'uvéite antérieure et les maladies rétinienne, telles que la chorioretinite, l'œdème papillaire, l'hémorragie rétinienne, les infiltrats périvasculaires rétinien et le décollement bulleux de la rétine, sont les signes les plus courants de l'EMC. (Okada H, 2001)

3.3.3 Signes neuromusculaires :

Les manifestations neurologiques de l'ehrlichiose sont principalement le résultat d'une méningite ou d'une hémorragie méningée, ou des deux, et résultent de lésions des tissus adjacents du système nerveux central (SNC) ou du système nerveux périphérique.

Des crises d'épilepsie, une stupeur, une ataxie avec dysfonctionnement du motoneurone supérieur ou inférieur, un dysfonctionnement vestibulaire central ou périphérique aiguë, une anisocorie, un dysfonctionnement cérébelleux, des tremblements intentionnels et une hyperesthésie généralisée ou localisée ont tous été observés.

Dans de rares cas, des morulae ont également été trouvées dans les cellules présentes dans le liquide céphalo rachidien (LCR). (Okada H, 2001)

3.3.4 Signes cardiologiques :

Il existe des preuves que l'ehrlichiose pourrait être un facteur de risque de lésion myocardique, comme l'a suggéré la découverte de taux accrus de troponine cardiaque 1 chez des chiens atteints d'une infection aiguë à *E. canis*. Dans un cas, des modifications électrocardiographiques apparentes ont été détectées en association avec une infection à *E. canis*. (Okada H, 2001)

3.3.5 Infections concomitantes ou secondaires :

Les tiques peuvent héberger plusieurs organismes pathogènes, entraînant des co-infections chez le chien infecté.

Par conséquent, les résultats positifs des méthodes de réactivité des anticorps ou de détection des acides nucléiques doivent être interprétés avec prudence pour définir *E. canis* comme la seule cause d'une maladie clinique, à moins que d'autres agents pathogènes potentiels transmis par les tiques n'aient été exclus.

De plus, les chiens présentant des aberrations immunitaires résultant d'une ehrlichiose peuvent être infectés secondairement par des maladies opportunistes bactériennes, fongiques ou protozoaires. (Okada H, 2001)

3.4 Diagnostic :

Le diagnostic de l'ehrlichiose repose généralement sur une combinaison d'anamnèse (c'est-à-dire, séjour dans une zone d'endémie, antécédents de voyage, infestation par des tiques), de signes cliniques, d'anomalies hématologiques et de résultats sérologiques.

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) est désormais utilisée en milieu clinique pour obtenir un diagnostic (voir la section Détection génétique moléculaire de ce chapitre).

Comme *E. canis* est transmis par *R.sanguineus*, une co-infection avec d'autres agents pathogènes transmis par les tiques et transmis par ce même vecteur de tique doit toujours être recherchée. (Iqbal Z, 1994)

3.4.1 Laboratoire :

Dans la phase aiguë, les anomalies hématologiques typiques comprennent une thrombocytopénie modérée à sévère caractéristique, une anémie légère et une leucopénie.

La thrombocytopénie est la caractéristique de la phase aiguë et se caractérise par une mégathrombocytose.

L'anémie observée pendant la phase aiguë de l'EMC est considérée comme une « anémie de maladie inflammatoire » et est classiquement une anémie normocytaire légère à modérée, normochrome et non régénératrice.

3.4.2 Cytologique :

Le diagnostic de EMC peut être posé par la mise en évidence de morulas dans les monocytes des frottis sanguins ou de macrophages issus d'aspirations de tissus tels que la rate, le poumon et les ganglions lymphatiques.

La recherche de morulas est difficile et prend du temps, mais peut être optimisée en effectuant des frottis leucocytaires ou en examinant de minces frottis sanguins réalisés à partir d'un lit capillaire périphérique du bord de l'oreille. Les morulas peuvent être visualisées dans les monocytes présents dans les frottis sanguins périphériques, dans le liquide synovial ou, rarement, dans le LCR.

Cependant, il a été démontré que les frottis leucocytaires ont une sensibilité élevée pour la détection des morulas. Les plaquettes, les granules azurophiles lymphocytaires, les corps lymphoglandulaires et le matériel nucléaire phagocyté peuvent tous être confondus avec des inclusions ehrlichiales.

3.4.3 Sérologique :

- Test d'anticorps fluorescents.
- Culture d'organismes.
- Détection génétique moléculaire.

3.5 Traitement :

La doxycycline et la minocycline dans certains pays sont considérées comme le traitement de choix, bien que la tétracycline et l'oxytétracycline aient été utilisées initialement et soient toujours efficaces.

La doxycycline est une tétracycline semi-synthétique liposoluble qui est facilement absorbée pour produire des concentrations sanguines, tissulaires et intracellulaires élevées. Étant donné que les Ehrlichia peuvent persister à l'intérieur des cellules, la pénétration du médicament dans la cellule est essentielle pour éliminer l'infection.

La doxycycline présente l'avantage supplémentaire d'une demi-vie plus longue et d'une pénétration dans le SNC plus élevée que la tétracycline ou l'oxytétracycline . Après traitement des chiens infectés chroniquement, les résultats de la PCR sont restés positifs pour le sang des chiens et pour les tiques se nourrissant d'eux. (Harrus S, 1997)

4 Mycoplasmoses hémotropes (hémobartonellose) :

4.1 Mycoplasmes hémotropes chez le chat :

4.1.1 Etiologie :

Trois hémoplasmes, *M. haemofelis*, « *Candidatus Mycoplasma haemominutum* » et « *Candidatus Mycoplasma turicensis* », sont connus pour infecter le chat.

Dans les frottis sanguins colorés en polychromie, les mycoplasmes hémotropes apparaissent comme de petits bâtonnets bleu foncé, comme des cocci (0,3 à 0,8 μ m), ou comme des formes annulaires légèrement plus grandes qui sont généralement attachées aux érythrocytes.

Dans les frottis sanguins épais ou les zones épaisses de frottis sanguins minces, presque tous les organismes apparaissent comme des cocci. Les organismes en forme d'anneau et de bâtonnet sont plus facilement visibles dans les frottis sanguins minces ou sur les bords plumeux des frottis sanguins épais. (Dowers KL, 2009)

4.1.2 Pathogénie :

La dissémination de l'infection par des arthropodes hématophages tels que les puces est considérée par beaucoup comme le principal mode de transmission.

Il a été suggéré que *M. haemofelis* peut être transmis des chattes atteintes de la maladie clinique à leur progéniture nouveau-née en l'absence de vecteurs arthropodes. La transmission iatrogène de *M. haemofelis* peut se produire par transfusion de sang de chats porteurs cliniquement sains.

La gravité de la maladie produite par *M. haemofelis* varie, certains chats présentant une anémie légère et aucun signe clinique et d'autres présentant une dépression marquée et une anémie sévère entraînant la mort.

Dans de nombreux cas, une diminution rapide de l'HCT suivie d'une augmentation rapide se produit en association avec l'apparition et la disparition d'un grand nombre d'organismes dans le sang.

Dans d'autres cas, l'HCT reste plus faible ou continue de diminuer pendant 1 ou plusieurs jours après un épisode de parasitémie, probablement en raison de la destruction des érythrocytes.

Les épisodes parasitémiques répétitifs semblent provoquer des lésions érythrocytaires progressives et une réduction de la durée de vie des érythrocytes.

Certaines lésions des érythrocytes peuvent être causées directement par l'organisme, mais les lésions à médiation immunitaire semblent être plus importantes.

La fixation des organismes aux érythrocytes expose soit des antigènes érythrocytaires cachés, soit entraîne des antigènes érythrocytaires altérés, avec une réponse ultérieure de l'hôte produisant des anticorps anti-érythrocytes.

Les chats qui développent une réponse immunitaire suffisante contre l'organisme et une réponse régénératrice de la moelle osseuse qui compense la destruction des érythrocytes se rétablissent de la maladie.

Les chats qui se rétablissent d'infections aiguës à *M. haemofelis* restent chroniquement infectés pendant des mois ou des années, voire toute leur vie. (George JW, 2002) (JW, 1990)

4.1.3 Tableau clinique :

Les signes cliniques d'une infection à hémoplasme sont variables et dépendent de l'espèce concernée. De plus, le caractère aiguë ou chronique de l'infection et la présence d'un processus pathologique concomitant ou d'un stress peuvent influencer sur la gravité des signes cliniques : (McGrotty YL, 2002)

Les signes cliniques les plus courants chez les chats malades infectés de manière aiguë et présentant une anémie sévère sont la tachypnée, la dépression, la faiblesse, l'anorexie, la perte de poids, la pâleur des muqueuses et la déshydratation.

Une splénomégalie a également été signalée, probablement associée à une destruction extravasculaire des globules rouges et éventuellement à une hématopoïèse extra médullaire.

Ce n'est que lorsque la destruction des érythrocytes est grave et se développe rapidement que l'ictère peut être observé.

Les signes cliniques, comme mentionné précédemment, dépendent du stade de la maladie et de la rapidité avec laquelle l'anémie se développe. Si l'anémie se développe progressivement, un chat peut présenter une perte de poids mais rester vif et alerte.

En revanche, une chute précipitée de l'HCT au début de la maladie associée à une parasitémie sévère entraîne peu de perte de poids, mais une dépression mentale marquée et d'autres signes cliniques d'anémie se produisent.

La température rectale est généralement normale, sauf pendant la phase aiguë de la maladie, où elle augmente environ 50 % du temps. Des températures inférieures à la normale peuvent être présentes chez les chats moribonds.

4.1.4 Traitement :

Le traitement antimicrobien réduit ou élimine la parasitémie visible, mais il n'élimine pas l'organisme de l'organisme.

La doxycycline (10 mg/kg, par voie orale [PO], par jour) ou des antibactériens tétracycline/oxytétracycline doivent être administrés pendant 3 semaines.

Malheureusement, les antibactériens tétracycline peuvent provoquer de la fièvre, des signes de maladie gastro-intestinale (par exemple, sténose œsophagienne), ou les deux chez les chats.

Les résultats préliminaires indiquent que l'enrofloxacin (5 mg/kg, PO, une fois par jour) pendant 2 semaines peut être une alternative efficace pour les chats qui ne tolèrent pas les antibactériens tétracyclines.

L'utilisation d'un traitement à la marbofloxacin (2 mg/kg PO, par jour) s'est également avérée être un traitement efficace pour *M. haemofelis* mais avait un effet beaucoup moins prononcé chez les chats infectés par « *Candidatus M. haemominutum* ».

Le chloramphénicol a déjà été recommandé pour le traitement des infections à *M. haemofelis*, mais il ne doit pas être utilisé à cette fin, car il provoque une hypoplasie érythroïde dose-dépendante dans la moelle osseuse des chats.

Des glucocorticoïdes, tels que la prednisolone (1 à 2 mg/kg, PO, toutes les 12 heures), peuvent être administrés aux animaux sévèrement anémiques pour diminuer l'érythrophagocytose. La dose de glucocorticoïdes doit être progressivement diminuée à mesure que l'HCT augmente.

Des transfusions sanguines sont nécessaires lorsque l'anémie est considérée comme mettant la vie en danger.

Une perfusion intraveineuse contenant du glucose est recommandée pour les animaux moribonds. Les animaux traités et non traités qui se rétablissent d'une infection à *M. haemofelis* restent généralement porteurs mais rechutent rarement avec une maladie clinique une fois que l'HCT revient dans les limites de référence.

CHAPITRE I : PATHOLOGIES DU SANG CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT

Après une immunosuppression avec des glucocorticoïdes, les organismes peuvent toujours être détectés par PCR. (Dean RS, 2008) (Dos Santos AP, 2008).

4.2 Mycoplasmes hémotropes chez le chien :

4.2.1 Etiologie :

Mycoplasma haemocanis (anciennement *Haemobartonella canis*) est considéré comme l'agent causal de la mycoplasmosse hémotrope chez le chien.

M. haemocanis diffère morphologiquement de *M. haemofelis* en ce qu'il forme plus communément des chaînes qui s'étendent sur la surface des érythrocytes affectés.

Cependant, les organismes individuels peuvent également apparaître sous forme de petits cocci, de bâtonnets ou d'anneaux. (Laberke S, 2010)

4.2.2 Pathogenie :

La transmission de *M. haemocanis* par la tique brune du chien (*Rhipicephalus sanguineus*) a été démontrée expérimentalement.

La transmission transstadiale et transovarienne chez les tiques a également été décrite, indiquant que la tique peut être un réservoir important ainsi qu'un vecteur d'infection.

La transmission iatrogène d'organismes *M. haemocanis* par transfusion sanguine de chiens porteurs cliniquement normaux peut également se produire, mais elle est moins préoccupante que chez les chats, car le chien receveur doit généralement être splénectomisé avant que la maladie cliniquement significative ne se produise.

Il faut généralement environ 1 à 2 mois pour que la concentration en HCT et en hémoglobine chute à des valeurs minimales, et un temps égal est nécessaire pour qu'elles reviennent à la normale.

Bien que l'évaluation immunologique des chiens infectés soit limitée, il semble que des anticorps soient produits contre les érythrocytes. (S K. , 1977)

4.2.3 Tableau clinique : (Inokuma H O. M., 2006)(Inokuma H T. S., 2004)

Sauf si d'autres maladies sont également présentes, les signes cliniques sont rarement apparents chez les chiens non splénectomisés infectés par *M. haemocanis* ou « *Candidatus M. haematoparvum* ».

CHAPITRE I : PATHOLOGIES DU SANG CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT

Les chiens splénectomisés qui sont infectés expérimentalement par *M. haemocanis* deviennent apathiques et développent des muqueuses pâles à mesure que l'anémie progresse, mais ont généralement une température rectale et un appétit normal.

Dans la semaine suivant la détection de *M. haematoparvum* dans le sang d'un chien splénectomisé atteint de néoplasie lymphoïde, une anémie régénérative sévère s'est développée

4.1.4 Diagnostic :

4.2.4.1 Laboratoire :

Dans la plupart des cas, un temps suffisant s'est écoulé entre le développement de l'anémie et la reconnaissance initiale de la maladie pour qu'il y ait des preuves sanguines périphériques d'une réponse régénératrice de la moelle osseuse à l'anémie.

Les résultats hématologiques comprennent une réticulocytose avec une polychromasie et une anisocytose accrue, des érythrocytes nucléés circulants et des corps de Howell-Jolly fréquents.

La macrocytose prend plus de temps à se développer et, par conséquent, peut ne pas être présente lorsque les animaux sont initialement examinés par un vétérinaire.

4.2.4.2 Cytologique :

D'après les informations actuelles, il semble que *M. haemocanis* puisse généralement être identifié dans le sang des chiens atteints de mycoplasmosé hémotrope cliniquement significative, bien que les organismes puissent être peu nombreux et difficiles à trouver.

Comme pour les chats, le clinicien doit être capable de différencier les organismes des artefacts de coloration, des pointillés basophiles et des corps de Howell-Jolly.

Le critère le plus utile est la tendance de *M. haemocanis* à former des chaînes d'organismes sur la surface des érythrocytes. Mesurant seulement environ 0,3 µm de diamètre, les corps coccoïdes de *Candidatus M. haematoparvum* peuvent facilement passer inaperçus.

Ils apparaissent généralement seuls avec un à quatre cocci par globule rouge ou en doublets, mais les formes en anneau et en chaîne n'ont pas été décrites.

4.2.4.3 Necropsique :

Les résultats de l'autopsie chez les patients atteints de mycoplasmosé hémotrope canine n'ont pas été décrits de manière exhaustive.

CHAPITRE I : PATHOLOGIES DU SANG CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT

Le sang apparaît aqueux et les tissus pâles.

La moelle osseuse est rouge et gélatineuse.

Une hyperplasie du système phagocytaire mononucléaire peut être présente.

4.2.5 Traitement :

L'organisme n'a jamais été éliminé de la circulation pendant le traitement.

Des transfusions sanguines doivent être administrées lorsque l'anémie est considérée comme mettant la vie en danger.

Les tétracyclines administrées par voie orale se sont révélées efficaces dans le traitement des infections à *M.haemocanis*. Les chiens qui se remettent d'une mycoplasmoseshémotrope ont probablement des infections latentes. (Hulme-Moir KL, 2010)

4.2.6 Prophylaxie :

Il est recommandé d'éliminer les arthropodes hématophages des chiens et des chats car ils peuvent transmettre des maladies infectieuses, notamment la mycoplasmoseshémotrope.

La transmission iatrogène de *M.haemocanis* chez les chiens n'est généralement préoccupante que si le receveur a subi une splénectomie.

La transmission iatrogène peut probablement être évitée chez les chats et les chiens en testant les donneurs de sang à l'aide de tests basés sur la PCR.

5 Anaplasmoses :

5.1 Infection à *Anaplasma phagocytophilum* (anaplasmosse granulocytotrope canine) :

5.1.1 Etiologie :

Les rickettsies de la famille des Anaplasmataceae sont des organismes gram-négatifs, non mobiles, coccoïdes à ellipsoïdes, souvent pléomorphes, dont la taille varie de 0,2 à 2,0 µm de diamètre.

Ce sont des aérobies obligatoires dépourvus de voie glycolytique et ce sont tous des parasites intracellulaires obligatoires.

Contrairement aux autres bactéries Gram-négatives, les membres de la famille. *A. phagocytophilum* infecte préférentiellement les cellules de la lignée myéloïde de la moelle osseuse, principalement les neutrophiles.

Deux morphologies ultra structurales sont observées : une petite forme à noyau dense avec protoplasme condensé, de 0,2 à 0,4 µm de taille (également appelée corps élémentaire) ; et une forme réticulée plus grande, de 0,8 à 2,0 µm (également appelée corps réticulé).

Les deux formes sont présentes dans la même vacuole et peuvent subir une fission binaire égale ou inégale. Dans les cellules de mammifères, les morulas ont généralement un diamètre de 1,5 à 2,5 µm, mais peuvent atteindre 6 µm. Au microscope optique, les morulas d'*A. phagocytophilum* sont indiscernables des morulas d'*E. ewingii*. (JS, The ehrlichiosis: an overview, 1999)

5.1.1.1 Transmission :

La transmission par les tiques, impliquant des membres du complexe *Ixodes persulcatus* (par exemple, *I. scapularis*, *I. pacificus*, *I. ricinus* et *I. persulcatus*), est le principal mode d'infection naturelle des humains et des animaux. Comme pour *B. burgdorferi*, l'infection des tiques par *A. phagocytophilum* se produit lorsque des larves sensibles se nourrissent d'hôtes vertébrés réservoirs qui ont été infectés par des nymphes.

5.1.2 Pathogénie :

Une période d'alimentation minimale de 24 heures et jusqu'à 48 heures est nécessaire pour que les tiques *Ixodes spp.* Transmettent *A. phagocytophilum* aux hôtes mammifères sensibles.

CHAPITRE I : PATHOLOGIES DU SANG CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT

Cette bactérie est capable de résider dans les glandes salivaires des tiques *Ixodes spp.* Non nourries ; par conséquent, si elle est présente dans un état infectieux et en nombre suffisant, elle pourrait potentiellement être transmise plus rapidement.

L'incubation de la maladie après une morsure de tique est de 1 à 2 semaines.

La pathogénèse d'*A. phagocytophilum* implique une réplication précoce, une adhésion cellulaire, une internalisation, un transport sécrétoire, une adhérence endothéliale et une inhibition de l'apoptose, une évasion du système immunitaire, ainsi qu'une multiplication et une libération. On ne sait pas exactement comment *A. phagocytophilum* provoque la maladie.

La maladie chez le chien est associée à une thrombocytopénie légère à modérée, une lymphopénie et une anémie légère.

Les mécanismes proposés comprennent la myélosuppression des cytokines, les auto-anticorps, l'infection des précurseurs hématopoïétiques et la consommation de cellules sanguines, en particulier de plaquettes. (Pretorius AM, 1999) (Jafari S, 1997)

5.1.3 Etude clinique :

La majorité des chiens infectés par *A. phagocytophilum* présentent des signes non spécifiques de la maladie. La fièvre (à 39,2 °C ou plus) est l'anomalie la plus fréquente, présente chez 61 à 90 % des chiens affectés.

La léthargie ou la dépression et l'anorexie sont également des signes constants, survenant chez plus de 75 % des chiens.

Des douleurs ou un inconfort musculosquelettique sont évidents chez plus de la moitié des chiens, caractérisés par une réticence à bouger, une raideur, une faiblesse et une boiterie.

Moins de 10 % présentent des douleurs articulaires manifestes. La polyarthrite neutrophile peut être la cause de boiterie chez certains chiens.

D'autres anomalies cliniques observées moins fréquemment comprennent des vomissements ou une diarrhée (ou les deux), des signes respiratoires tels qu'une toux (peu fréquente, douce et non productive) ou une respiration difficile.

CHAPITRE I : PATHOLOGIES DU SANG CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT

Les chiens peuvent également présenter une lymphadénomégalie, une splénomégalie, une hépatomégalie, une congestion sclérale, une polydipsie et des muqueuses pâles.

Contrairement à l'infection à *E. canis*, seulement 3 à 11 % des chiens infectés par *A. phagocytophilum* présentent des signes de troubles hémorragiques (pétéchies, méléna et épistaxis).

Des signes de convulsions, d'ataxie et de déficits proprioceptifs au niveau du SNC ont été rarement observés chez les chiens atteints d'ehrlichiose granulocytotrope. (Goodman JL, 1996)

5.1.4 Diagnostic :

5.1.4.1 Diagnostic cytologique :

La visualisation des morulas dans les liquides corporels ou les aspirats de tissus permet un diagnostic probable d'infection à rickettsies granulocytotropes.

Cependant, les inclusions d'*A. phagocytophilum* sont morphologiquement indiscernables des inclusions d'*E. ewingii* et elles peuvent également être confondues avec des artefacts de coloration ou des précipités basophiles ; par conséquent, une confirmation par des méthodes de PCR doit être envisagée.

5.1.4.2 Diagnostic par PCR :

La PCR est un outil de diagnostic plus sensible que la recherche de morulas circulantes et fournit une confirmation fiable spécifique à l'espèce.

5.1.4.3 Diagnostic sérologique :

Le diagnostic d'une infection à *A. phagocytophilum* peut s'appuyer sur des tests sérologiques si aucune morula n'est trouvée dans les neutrophiles du sang périphérique et si un test PCR n'est pas disponible.

Des tests sérologiques indirects polyclonaux AF et Western immunoblot ont été développés, mais la plupart des laboratoires vétérinaires ne proposent que des tests indirects FA, qui peuvent avoir une réactivité croisée avec des organismes appartenant à ce genre et à d'autres. (Goodman JL, 1996)(Kim HY, 2002)

5.1.5 Traitement :

Selon les tests de sensibilité *in vitro*, *A. phagocytophilum* est inhibé par la doxycycline, la rifampicine et la lévofloxacine. Les dérivés de la tétracycline sont presque exclusivement recommandés pour traiter les infections à *A. phagocytophilum*.

Pour les chiots de moins d'un an, le chloramphénicol a été recommandé pour éviter le jaunissement des dents, bien que la doxycycline soit moins susceptible que les tétracyclines hydrosolubles de provoquer ce problème (voir la liste des médicaments en annexe).

La doxycycline est donc le traitement généralement indiqué. Étant donné que certains chiens sont co-infectés par *B. burgdorferi*, les deux organismes partageant la même répartition géographique et étant transmis par le même vecteur, un traitement à la doxycycline plus long de 4 semaines a été recommandé.

Il n'existe aucune preuve que le traitement à long terme au-delà de l'intervalle précédemment recommandé soit bénéfique, et il n'existe aucune preuve de maladie chronique induite par une infection persistante à *A. phagocytophilum* chez les chats ou les chiens.

Aucune maladie clinique n'a été observée chez quatre chiens atteints d'infections chroniques expérimentales chez lesquels le traitement à la doxycycline n'a pas réussi à éliminer l'état de porteur. La plupart des chiens répondent rapidement au traitement et sont souvent cliniquement sains 24 à 48 heures après le début du traitement ; cependant, les propriétaires signalent parfois que des semaines ou des années sont nécessaires pour que leurs chiens se rétablissent complètement.

Cela peut être dû à la transmission concomitante d'un autre organisme non sensible à la doxycycline.

Les maladies concomitantes doivent être traitées de manière appropriée. Si la réponse aux dérivés de la tétracycline est faible, le clinicien doit envisager d'autres diagnostics. (de Morais HAS, 2003)

5.1.6 Prophylaxie :

Il n'existe pas de vaccin pour prévenir l'infection par *A. phagocytophilum*. La prévention repose sur :

- L'évitement de l'exposition aux tiques vectrices du printemps à l'automne,
- L'utilisation prophylactique d'acaricides et

- L'utilisation prophylactique de doxycycline ou de tétracycline lors de visites dans les régions endémiques d'*A. phagocytophilum*.

Bien que le retrait manuel des tiques puisse prévenir la transmission, il n'est pas possible de le faire chez les chiens qui ont fréquemment accès à l'extérieur.

5.2 Infection à *Anaplasma platys* (anaplasmose thrombocytotropique) :

5.2.1 Etiologie :

La thrombocytopénie cyclique infectieuse du chien est provoquée par *Anaplasma platys*, un petite parasite rickettsiose des plaquettes classé à l'origine comme *E. platys*.

Les organismes *A. platys* apparaissent comme des inclusions bleues dans les plaquettes lorsque les frottis sanguins sont colorés au Giemsa ou au nouveau bleu de méthylène.

Les plaquettes infectées peuvent contenir une à trois vacuoles simples tapissées d'une membrane avec 1 à 15 organismes par vacuole. Les organismes semblent pénétrer dans les plaquettes en adhérant à la surface des plaquettes, puis en s'endocytosant.

5.2.2 Pathogénie :

Le mode de transmission naturel n'a pas été démontré de manière concluante, mais il implique probablement un vecteur de tique. Le pourcentage le plus élevé de plaquettes parasitées se produit pendant l'épisode parasitémique initial.

Quelques jours après l'apparition des plaquettes parasitées, la numération plaquettaire diminue brusquement et les organismes ne sont généralement plus visibles. La numération plaquettaire chute généralement en dessous de 20 000/ μ L en association avec les épisodes parasitémiques.

Après la disparition des micro-organismes, la numération plaquettaire augmente rapidement, atteignant les valeurs de référence en 3 à 4 jours. Les parasitémies et les épisodes thrombopéniques ultérieurs réapparaissent à des intervalles de 1 à 2 semaines.

Bien que le pourcentage de plaquettes infectées diminue jusqu'à 1 % ou moins lors des parasitémies ultérieures, les épisodes thrombopéniques sont aussi graves que ceux qui suivent la parasitémie initiale.

Alors que la thrombocytopénie initiale peut se développer principalement à la suite d'une lésion directe des plaquettes par des organismes en répliation, les mécanismes immunitaires d'élimination des plaquettes peuvent être plus importants lors des épisodes thrombocytopéniques ultérieurs. (Shaw SE, 2005)

5.2.3 Diagnostic :

5.2.3.1 Diagnostic cytologique :

Le diagnostic d'une infection à *A. platys* peut être établi en trouvant des organismes dans les plaquettes sur des frottis sanguins colorés.

Dans de nombreux cas, cette méthode de diagnostic n'est pas fiable en raison des résultats faussement négatifs lorsque les parasites sont absents ou présents en très faible nombre.

De plus, des résultats faussement positifs peuvent se produire lorsque d'autres inclusions peuvent parfois être confondues avec ces organismes.

Une procédure de coloration immunocytochimique à l'avidine-biotine a été décrite qui peut identifier spécifiquement les morulas d'*A. platys* dans les plaquettes et peut aider à différencier les organismes des gros granules plaquettaires ou des restes de noyaux de mégacaryocytes.

De plus, les inclusions dans les plaquettes se sont colorées positivement dans un test FA indirect utilisant du sérum de souris anti-*A. phagocytophilum*.

5.2.3.2 Diagnostic sérologique :

Test d'anticorps fluorescents : Un test FA indirect pour la détection des anticorps sériques dirigés contre *A. platys* est disponible dans le commerce.

La réactivité croisée sérologique entre *A. platys* et *E. canis* ne semble pas se produire lors de l'utilisation de tests FA indirects, mais la réactivité croisée entre *A. platys* et les organismes *A. phagocytophilum* étroitement apparentés se produit.

5.2.3.3 Diagnostic par PCR :

Des tests basés sur la PCR ont été utilisés pour détecter les chiens infectés par *A. platys*. La sélection d'amorces appropriées pour les tests basés sur la PCR est essentielle. Une combinaison d'amorces considérée comme spécifique pour *A. phagocytophilum* s'est avérée également amplifier *A. platys*. (Shaw S, 2001)

5.2.4 Traitement et prévention :

D'après des études préliminaires, les tétracyclines et l'enrofloxacine aux doses recommandées pour les infections à *E.canis* semblent efficaces contre *A. platys*. Étant donné que les tiques (et peut-être d'autres arthropodes) sont sans aucun doute responsables de la transmission naturelle de cette maladie, une lutte anti vectorielle adéquate est recommandée pour empêcher sa propagation. (Lane RS, 2001)

CHAPITRE II :
EXAMEN
CYTOLOGIQUE

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

1 Techniques d'échantillonnage :

Les échantillons cytologiques peuvent être obtenus par de nombreuses techniques, notamment le prélèvement d'aiguilles, les écouvillons, les grattages, les empreintes et les brosses. Il est préférable d'effectuer le prélèvement d'aiguilles et d'empreintes dans zones exemptes d'ulcération ou de nécrose tissulaire, et cela peut être utile pour échantillonner dans plusieurs zones, y compris le centre. (Dunn J. , 2014)

1.1 Aspiration à l'aiguille fine :

La cytologie par aspiration à l'aiguille fine est une technique utile pour l'investigation des masses tissulaires (lésions cutanées, ganglions lymphatiques, intra-thoraciques ou intra-abdominales masses) et les épanchements des cavités corporelles. La technique peut être facilement réalisée dans un cadre de pratique. L'équipement de base suivant est requis :

- Lames de verre avec une extrémité dépolie qui peut être facilement étiquetée.
- Seringue de 5 ml (si nécessaire également une seringue de 2 ml ou 10 ml ; une seringue de 10 ml peut être avantageux pour aspirer des masses très fermes) .
- Aiguilles 20-22G.
- Un crayon pour étiqueter les lames avec la date et la localisation de la lésion ainsi que le nom du patient. Remarque : Étiquettes écrites au stylo à bille ou au marqueur peut être lavé avec des taches à base d'alcool (par exemple, Diff-Quik, Wright's, May–Grünwald–Giemsa) . (Dunn J. , 2014)

Pour les organes tels que le foie ou la rate.

- des aiguilles plus longues sont généralement nécessaires, surtout chez les grands chiens. Ici, une aiguille vertébrale avec un stylet est recommandée pour éviter contamination par les tissus adjacents à la masse ou à l'organe (avec des tissus plus mous plus petits) des aiguilles et des seringues peuvent être utilisées).

Les aspirations à l'aiguille fine peuvent être effectuées avec une « technique d'aspiration » ou une « technique de non-aspiration ». La technique sans aspiration est privilégiée pour l'échantillonnage de tous masses ou organes très vasculaires (par exemple rate, foie) afin de minimiser contamination du sang. Dans l'ensemble, la procédure d'échantillonnage ne devrait pas durer plus de 5 à 10 s, et plusieurs frottis doivent être préparés. (Dunn J. , 2014)



Figure 5: Aspiration à l'aiguille fine à l'aide d'une aiguille et d'une seringue. (Dunn J. , 2014)

1.1.1 Technique d'aspiration :

- La masse ou l'organe (par exemple un ganglion lymphatique périphérique) est immobilisé avec d'une main et l'aiguille est insérée avec l'autre (Figure 1). Partout où possible, l'aspiration à l'aiguille fine des organes ou masses abdominaux est préférable réalisée sous guidage échographique.
- La peau est désinfectée comme pour une ponction veineuse.
- L'aiguille avec la seringue attachée est insérée dans la lésion.
- Le piston est retiré et tout en maintenant une pression négative, l'aiguille peut être redirigée pour aspirer différentes régions de la masse ou de l'organe.
- L'aiguille avec la seringue attachée est retirée après avoir relâché le piston.
- La seringue est remplie d'environ 3 à 5 ml d'air et refixée à l'aiguille pour expulser doucement le liquide aspiré sur la lame de verre. (Dunn J. M., 2014)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE



Figure 6: Aspiration à l'aiguille fine à l'aide d'un pistolet d'aspiration, par ex. «Zyto-Gun®» (Soins aux animaux ScilGmbH, Viernheim, Allemagne). (Dunn J. , 2014)

1.1.2 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. (SR, 2005)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

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 séchés guidés de lésions situées au sein de cavités corporelles. (SR, 2005)

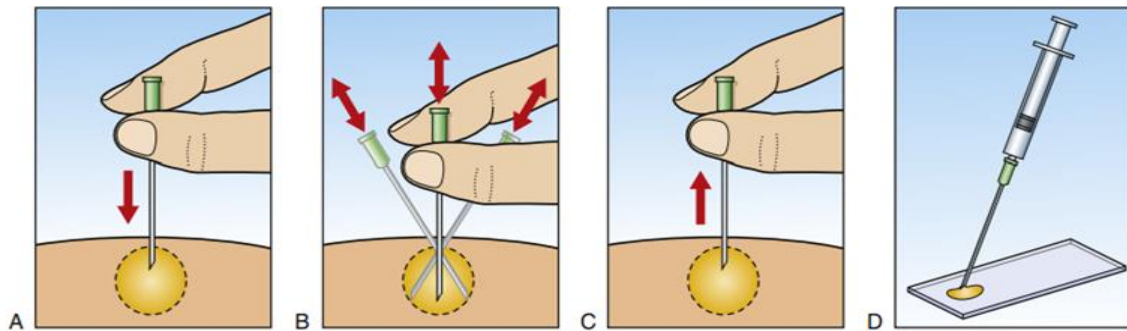


Figure 7 : présente une illustration en plusieurs étapes de la procédure de PAAF sans aspiration :

- 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. (SR, 2005)



Figure 8: La technique de non-aspiration avec la seringue fixée à l'aiguille est utilisée ici pour prélever la rate d'un chien présentant une ascite et un ictère sous contrôle échographique. Notez que la seringue est pré remplie d'air et est maintenue entre le pouce et l'index. (Dunn J. , 2014)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

Alternativement, l'aiguille est insérée avec une seringue déjà remplie de 2 à 3 ml. D'air attaché (Figure 4). L'aiguille et la seringue sont ensuite rapidement déplacées d'avant en arrière dans le tissu avant que l'aiguille avec la seringue attachée ne soit supprimée. Le matériau aspiré est ensuite éjecté sur la lame et étalé et les frottis sont préparés immédiatement.

1.2 Empreinte tissulaire :

La cytologie d'empreinte est devenue relativement rare. Cependant, certains peuvent l'utiliser occasionnellement pour des échantillons de tissu prélevés lors d'une chirurgie exploratoire ou dans le cadre d'un examen post-mortem. La clé pour réaliser une empreinte monocouche est d'utiliser une petite quantité de tissu et de minimiser la présence de liquide tissulaire. Si une grande masse tissulaire est excisée, une petite zone (inférieure à 1 cm carré) doit être proprement coupée pour l'empreinte. La surface de l'empreinte doit ensuite être doucement tamponnée sur une serviette en papier ou une autre surface absorbante pour éliminer l'excès de liquide tissulaire en surface. La surface tamponnée est ensuite doucement touchée sur la lame de verre en plusieurs endroits. Évitez de "peindre" la lame avec le tissu ou de le déplacer latéralement tout en touchant le verre. Si les empreintes semblent humides et sèchent lentement, tamponnez à nouveau et répétez la procédure.

Des empreintes sont également parfois réalisées sur des lésions cutanées ulcérées. Les mêmes principes s'appliquent, bien que l'élimination des tissus ne soit pas terminée. La lésion doit être doucement nettoyée des débris contaminants autant que possible, puis tamponnée comme indiqué ci-dessus avant de faire une empreinte sur la lame de verre (Dunn J. , 2014)

Les frottis cytologiques peuvent être préparés à partir du frottis sanguin (Figure 9) ou de la courge. Technique de préparation (Figure 9).

1.3 Frottis d'impression/empreintes :

Les empreintes peuvent être réalisées à partir de surfaces humides (par exemple biopsies, peau ulcérée ou exsudative) ainsi que des lésions cutanées sèches à l'aide de Sellotape. Il peut être nécessaire d'éliminer l'excès de sang ou de liquides tissulaires de la surface d'un échantillon de biopsie avec un tampon propre et sec ou une serviette en papier avant de faire l'empreinte sur

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

Une lame de verre propre. Les inconvénients des frottis d'empreintes sont qu'ils ne collectent que cellules de la surface de la lésion et peuvent donc ne pas être représentatives de la pathologie sous-jacente, moins de cellules sont collectées et une contamination bactérienne est plus probable. (Dunn J. , 2014)

1.4 Raclures :

Les grattages peuvent être utiles pour échantillonner des lésions extrêmement fermes qui sont moins susceptibles pour exfolier les cellules avec la technique d'aspiration. Une fois la lésion nettoyée et séchée, une grande lame de scalpel (tenue à un angle de 90°) est déplacée plusieurs fois sur la surface du Figure 4 La technique de non-aspiration avec la seringue fixée à l'aiguille est utilisée. (Dunn J. , 2014)

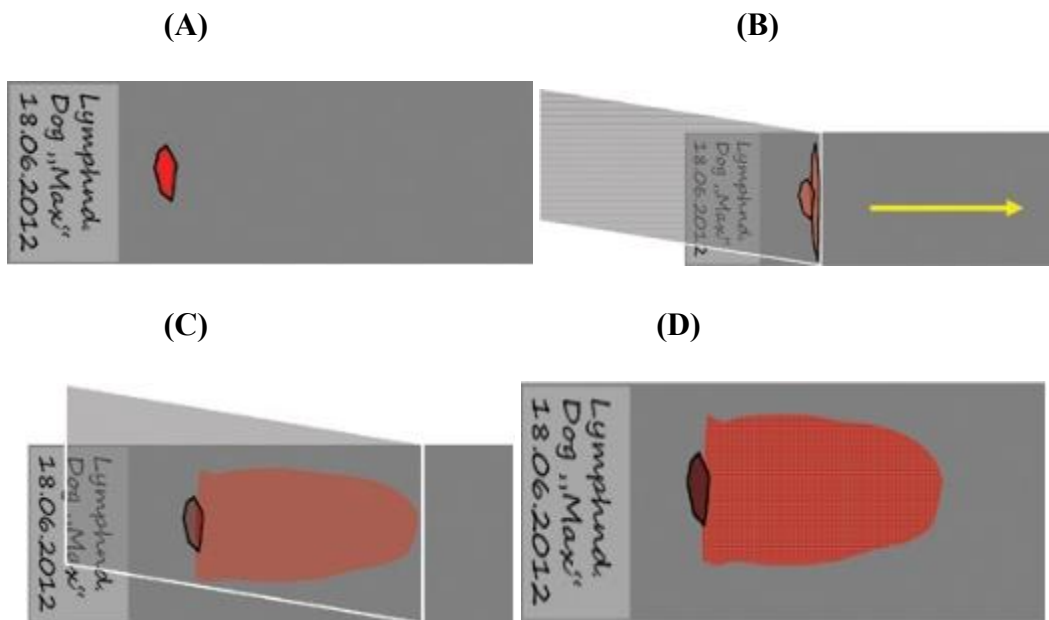


Figure 9 : Préparation du frottis à l'aide d'une technique de frottis sanguin.

(A) L'aspiration le matériel est déposé sur la lame de verre en éjectant 3 à 5 ml d'air à travers la seringue et aiguille. (B) Une deuxième lame maintenue à un angle de 45° (pour les fluides très visqueux tels que le liquide articulaire, des angles plus petits d'environ 25° sont recommandés) est rapproché jusqu'à ce qu'il fasse contact avec le matériel aspiré. (C/D) Le matériel est réparti sur

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

toute la largeur du chariot d'épandage qui est ensuite poussé vers l'avant en douceur et rapidement (Dunn J. , 2014)

1.5 Frottis par écouvillon :

Les frottis sur écouvillon sont particulièrement utiles pour préparer des frottis à partir de voies fistuleuses, le vagin ou le conduit auditif (Figure 6). Ils sont moins utiles pour le diagnostic des tumeurs (les inconvénients sont similaires à ceux décrits pour les frottis d'empreinte). (Dunn J. , 2014)

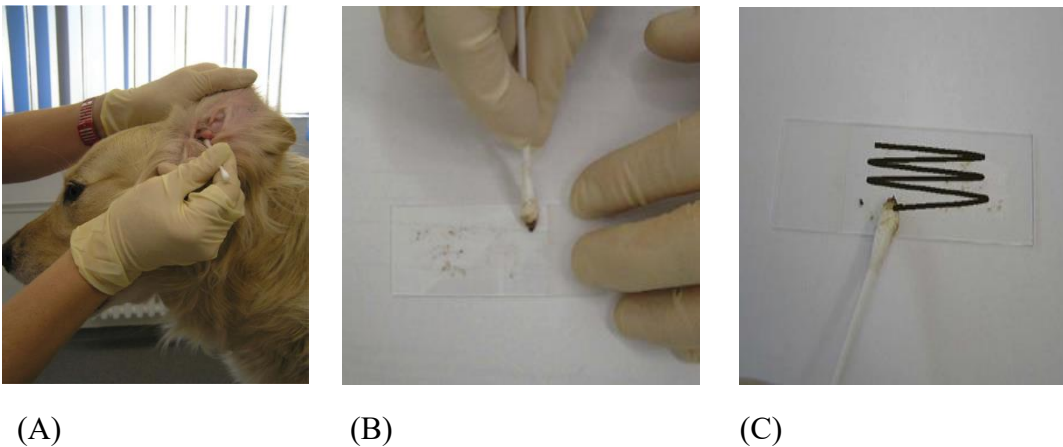


Figure 10 : Prélèvement d'un écouvillon auriculaire pour examen cytologique.

(A) Le cérumen ou les écoulements sont collectés avec un coton-tige.

(B) Le matériel est ensuite déroulé sur une diapositive.

(C) Notez le mouvement méandrique du coton-tige. (Dunn J. , 2014)

1.6 Brossages :

Les brossages sont effectués avec une cytobrosse (Figure 7) et ont l'avantage d'être plus représentatifs des couches profondes de la lésion que les liquides de lavage, les empreintes ou des écouvillons. Ils sont généralement prélevés au niveau de la conjonctive, des voies respiratoires ou du vagin. (Dunn J. , 2014)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE



Figure 11 : Acquisition d'une préparation de cytobrosse conjonctivale. Le matériel collecté avec la cytobrosse est déroulé sur une lame. (Dunn J. , 2014)

1.7 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 *Coccidioide simmitis*, 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.

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

Dans les autres cas, les calques des lésions nettoyées peuvent fournir plus d'informations que les calques effectués sur des lésions non nettoyées.

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.

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. (SR, 2005)

1.8 Prélèvement sanguin :

Prélèvement de sang dans un tube EDTA pour l'hémogramme est décrit ci-dessus. Il est important qu'un « bâton propre » se produise pour collecter du sang pour l'hématologie. Cela signifie l'insertion de l'aiguille directement dans la veine de prélèvement avant l'aspiration de l'échantillon pour éviter toute contamination des tissus.

La contamination des tissus lors d'une ponction veineuse entraîne une agrégation plaquettaire. L'agrégation plaquettaire diminue de manière artificielle la mesure de la concentration plaquettaire déterminée par systèmes de comptage de cellules et peuvent contribuer à une obstruction fluide dans les instruments d'hématologie.

Le frottis sanguin peut être réalisé immédiatement après une ponction veineuse par transfert de sang directement de l'aiguille à la ou aux diapositives, mais est le plus souvent fabriqué à partir d'une petite aliquote prélevée du tube EDTA. (Thrall, , 2012)

1.8.1 Préparation des frottis sanguins :

Le frottis sanguin coloré est un outil essentiel pour déterminer les concentrations de types de leucocytes individuels (c.-à-d. différentielles numération) et pour évaluer les anomalies pathologiques importantes impliquant les leucocytes, les érythrocytes et les plaquettes.

Pour réussir à obtenir des informations à partir d'un frottis sanguin, il faut une technique appropriée, qui crée à la fois une monocouche de cellules individuellement dispersées et une

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

perturbation minimale des distributions cellulaires relatives qui reflètent les concentrations cellulaires dans sang mêlé.

Un film mal préparé présente des faits artistiques confus et peut entraîner des répartitions cellulaires sur la diapositive qui conduire à de graves erreurs dans le comptage différentiel.

Préparation d'un frottis sanguin de bonne qualité nécessite la maîtrise d'un étalement (Figures 12).

La procédure la plus courante est connue sous le nom de technique de coin ou de poussée et utilise deux verres des lames de microscope. Une goutte de sang est placée près d'une extrémité de la première diapositive appuyée sur le comptoir.

La deuxième diapositive est placée sur le premier de manière à former un « coin » composé d'un angle de 30 à 45° devant la goutte de sang.

La deuxième diapositive, qui est connue sous le nom de glissière de poussoir, puis est reculée dans la goutte de sang et avança jusqu'au bout. Ceci devrait être accompli en un seul mouvement rapide qui implique un retournement du poignet tenant le coulisseau poussoir. Pression à la baisse sur la glissière du poussoir doit être minime.

Apprendre cette technique en présence d'une personne expérimentée dans la réalisation de bons films est utile et considérable. (Thrall, , 2012)

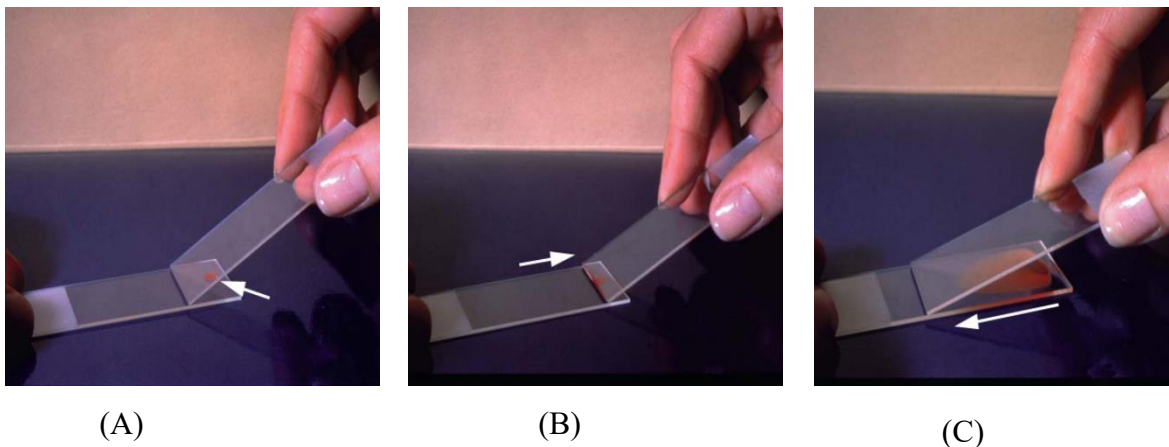


Figure12:Les étapes de préparation d'un frottis sanguin. (Thrall, , 2012)

(A)Préparation des frottis sanguins. La lame de sang est maintenue sur un support ferme surface, et une goutte de sang est placée près de l'extrémité (flèche). Le poussoir la lame est ensuite placée sur la lame de sang devant la goutte de sang pour former un angle d'environ 30°.

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

(B) Préparation des frottis sanguins. Le coulisseau du poussoir est reculé dans la goutte de sang avec un mouvement directionnel (flèche).

(C) Préparation du frottis sanguin. La lame poussoir est poussée vers l'avant avec un mouvement directionnel rapide (flèche).

Il est important que les mouvements montrés dans le Figure 8 soient une procédure unique et rapide impliquant un mouvement du poignet. Une pratique considérable est nécessaire pour développer cette compétence. Le résultat devrait être un film uniforme de sang qui devient progressivement plus mince. (Thrall, , 2012)

2 Manipulation d'échantillons de fluides pour examen cytologique :

Quelle que soit la technique ou le laboratoire utilisé pour tout test de diagnostic, l'obtention de résultats fiables commence par un prélèvement et manipulation de l'échantillon. Collecte d'échantillons, le traitement, les tests et l'interprétation doivent tous être correctement exécuté comme une chaîne complète et séquentielle d'événements pour un le résultat du diagnostic ait la valeur prévue. Par exemple, même le test le plus fiable, effectué de la manière la plus fiable installation et interprété par le diagnosticien le plus compétent, ne peut pas surmonter l'erreur introduite par un technique utilisée pour le prélèvement ou la manipulation des échantillons. Cette section fournit des lignes directrices pour le prélèvement et la manipulation des échantillons qui garantiront que la séquence initiale des événements se déroule correctement effectuer. (Thrall, , 2012)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

3 Coloration :

3.1 Techniques de coloration :

Plusieurs colorants sont disponibles et peuvent être utilisés seuls ou en combinaison. Avant la coloration, les frottis sont séchés à l'air ; une fixation supplémentaire n'est généralement pas nécessaire. Les colorants Romanowsky à base d'alcool couramment utilisés comprennent :

- May–Grünwald–Giemsa stain
- Wright's stain
- Diff-Quik stain (Siemens Diagnostics Healthcare GmbH)(Dunn J. , 2014)

3.2 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. (Meinkoth, 2006)

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 ta chromatique. 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 est familiarisé avec une coloration en particulier. (Meinkoth, 2006)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

3.2.1 Coloration de May–Grünwald–Giemsa en hématologie :

La coloration selon Pappenheim permet de réaliser la formule sanguine et modulaire. Elle associe deux colorations May–Grünwald et le Giemsa. Ce sont des mélanges neutres aux propriétés bien distinctes. Ils ne sont pas actifs en milieu alcoolique et n'agissent de façon sélective qu'au moment de leur libération en solution aqueuse tamponnée. Cette libération provoque la précipitation des colorants neutres sur les structures cellulaires.

- May–Grünwald colore l'élément acidophile ainsi que les granulations neutrophiles de leucocytes.
- Giemsa colore le cytoplasme des monocytes des lymphocytes et la chromatine de noyaux. (DUHAMEL G., 1984 1989)

3.2.1.1 Technique :

- Veuillez lire attentivement l'intégralité des informations qui suivent avant d'utiliser le produit.

- Technique de coloration par recouvrement Temps de réalisation : 14 minutes :

- Couvrir le frottis avec 1ml de May–Grünwald en solution pendant 3 minutes.
- Ajouter avec précautions 1ml de tampon en solution pour Hématologie et réaliser le mélange sans débordement. Laisser le mélange en contact 1 minute.
- Rejeter l'excès de colorant par égouttage ou rinçage rapide
- Couvrir le frottis avec le colorant de Giemsa R diluée au 1/30 dans un tampon en solution pour hématologie pendant 10 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courante ou dans un tampon en solution pour hématologie pendant 10 secondes.
- Décoloration par bain, Temps de réalisation : 14 minutes :
 - Bain de May–Grünwald en solution pendant 3 minutes.
 - Bain de tampon en solution pour hématologie pendant 1 minute.
 - Bain de coloration de Giemsa R dilué au 1/20 dans un tampon en solution pour hématologie pendant 10 minutes.
 - Rinçage rapide à l'eau courante ou dans un tampon en solution pour hématologie pendant 10 secondes. (DUHAMEL G., 1984 1989).

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

3.2.1.2 Résultats :

- Noyaux / chromatine: pourpre +/- dense.
- Granulocytes :
 - Cytoplasme sans ARN : rose violacé léger.
 - Granulation éosinophile : rose orangé.
 - Granulation basophile : bleu foncé.
 - Granulation neutrophile : rose violet +/- intense.
- Lymphocytes :
 - Cytoplasme avec ARN : bleu franc.
 - Cytoplasme sans ARN : bleu clair.
 - Granulations azurophiles : rouge.
- Monocytes :
 - Cytoplasme : bleu violacé.
 - Hématies : beige-rosé à gris-beige (selon le choix du tampon).
- Plaquettes
 - Granulomère : rouge violacé.
 - Hyalomère : bleuté.
- Parasites sanguins (paludisme) :
 - Noyau : rouge.
 - Cytoplasme bleu. (DUHAMEL G., 1984 1989).

3.2.1.3 Recommandation et/ou notes d'utilisation :

Produits Destinés à l'usage d'exclusivité de l'usage professionnel pour le diagnostic in vitro. L'enlèvement et le Traitement des Déchets Chimiques et biologiques Doivent être Effectues par une entreprise spécialisée et agrandie.

Température de stock : 15 - 25 ° C.

Il existe des colorants de Giemsa : Le Giemsa Rapide (Colorant de Giemsa R) et Le Giemsa Lent (Colorante de Giemsa L). Le Colorant de Giemsa R est préparé de façon à Permettre une action colloque en 10 minutes. Il est utilisé pour les frottis secs et les Gouttes épaisses.

Le Colorant de Giemsa L est préparé de façon à Permettre une action colloque en 20 minutes. Il est utilisé pour les frottis Humides et les coupes.

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

En Raison de la complexité du mode d'action des colorants, il est nécessaire d'établir des conditions standards de coloration pour garantir une bonne qualité de coloration et une bonne reproductibilité. (DUHAMEL G., 1984 1989)

En effet, L'emploi de l'eau de Ville ou de Mélanges d'eaux crée des variations imprévisibles et incontrôlables qui compromettent le résultat de la coloration. La qualité et la reproductibilité sont obtenues en utilisant des solutions tampon spécifiquement formulées pour l'hématologie.

Le choix du pH varie en fonction des habitudes des laboratoires. Trois valeurs de pH sont disponibles (6.8 et 7.0 et 7.2), en solution prête à l'emploi de 1 et 5 litres.

Sans danger pour l'utilisateur, les tampons en solution pour l'hématologie sont formulés à base de phosphates, sont spécifiquement développés pour l'hématologie, et permettent de garantir une meilleure stabilité et la rinçabilité des produits.

Les mêmes valeurs de pH sont disponibles aussi en pack de 6 fois 1 dose de poudres, chacune permettant de reconstituer 1 litre de solution tampon non spécifique à l'hématologie. (DUHAMEL G., 1984 1989)

3.2.2 Kit RAL 555 :

3.2.2.1 Principe :

- La coloration par le kit RAL 555 est une variante rapide de la coloration de May-Grünwald Giemsa. En milieu aqueux tamponné, ce produit permet :
 - Une coloration différentielle des frottis sanguins (formule leucocytaire, étude morphologique érythrocytaire, recherche de parasites) et médullaires (réalisation de myélogrammes)
 - La recherche de protozoaires sanguinolés et tissulaires en mycologie médicale et vétérinaire
 - L'étude cytologique et structurale des coupes de tissus fixés et inclus en paraffine ainsi que des ponctions et liquides
 - L'étude cytologique des urines, des liquides et du LCR

L'interprétation des frottis est identique à celle des colorations classiques (MGG). (DATRY A., nov.dec 1982)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

3.2.2.2 Description du kit :(3 X 100ml)

- Flaçon 1 : FIX-RAL 555 100ml
- Flaçon 2 : EOSINE-RAL 555 100ml
- Flaçon 3 : BLEU-RAL 555 100ml

Nombre de tests réalisables : 100 à 200 lames. (DATRY A., nov.dec 1982)

3.2.2.3 Recommandations et/ou notes d'utilisation :

Il est indispensable de conserver les flaçons à l'abri de la lumière. Le fixateur (solution 1) à base de méthanol est très hygroscopique, il est nécessaire de le renouveler régulièrement dans les pays ayant un degré hygrométrique élevé.

Le degré d'oxydation du BLEU-RAL 555 est normalisé lors de sa fabrication. Celui-ci évolue au cours du temps et lors du transfert de petites quantités d'éosine. Il est donc très important d'égoutter l'excédent de solution 2 avant de plonger la lame dans la solution 3.

La solution 2 peut présenter une couleur plus ou moins sombre, mais cela n'entraîne aucune modification dans le résultat de la coloration.

La solution 3 a une stabilité de 2 mois après ouverture du flaçon.

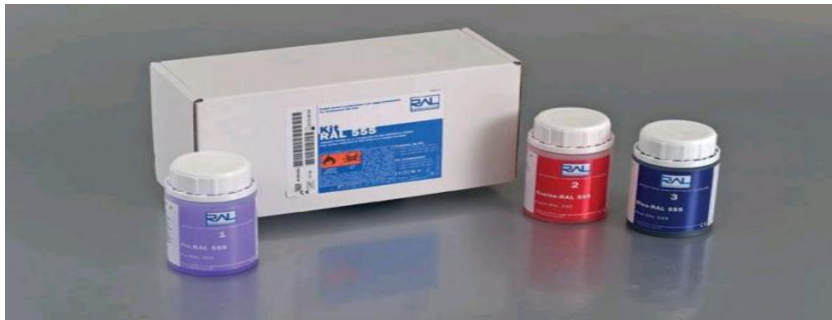


Figure 13: kit RAL 5.5.5. (DATRY A., nov.dec 1982)

3.2.2.4 Modes opératoires :

- Frottis sanguins, parasitologie vétérinaire (Piroplasmes et Pachydermatis) Temps de réalisation : 15 secondes :
 - Plonger la lame 5 fois 1 seconde dans le flaçon ① Égoutter l'excédent sur papier filtre

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

- Plonger la lame 5 fois 1 seconde dans le flacon ② Égoutter l'excédent sur papier filtre
- Plonger la lame 5 fois 1 seconde dans le flacon ③ Rincer rapidement à l'eau déminéralisée
- Protozoaires tissulaires (Leishmania, Toxoplasmes, Microsporidies), Cryptosporidium, Pneumocystis carinii et champignons responsables de mycoses profondes Temps de réalisation : 2 minutes et 5 secondes :
 - Plonger la lame 1 minute dans le flacon ① Égoutter l'excédent sur papier filtre
 - Plonger la lame 25 secondes dans le flacon ② Égoutter l'excédent sur papier filtre
 - Plonger la lame 40 secondes dans le flacon ③ Rincer rapidement à l'eau déminéralisée . (DATRY A., nov.dec 1982)
- Histo-Cytologie : Cytologie des coupes de tissus fixés et inclus en paraffine ; mise en évidence de Helicobacter pylori Temps de réalisation : 15 secondes (hors déparaffinage) :
 - Déparaffiner puis hydrater la coupe.
 - Plonger la lame et agiter pendant 7 secondes dans le flacon ②
 - Plonger la lame et agiter pendant 5 secondes dans le flacon ③
 - Rincer à l'eau courante et sécher sur du papier Joseph
 - Agiter la lame pendant 10 secondes dans l'alcool à 90°
 - Arrêter la différenciation par immersion de la lame dans l'alcool absolu
 - Plonger les lames dans deux bains de xylène ou de toluène
 - Monter avec un milieu de montage adapté à base de Toluène/Xylène
- Cyto-bactériologie : cytologie des liquides, des ponctions, des urines et du LCR Temps de réalisation : 15 secondes (1 minute 4 secondes pour le LCR) :
 - Plonger la lame 5 secondes (1 minute pour le LCR) dans le flacon ① Égoutter l'excédent sur papier filtre
 - Plonger la lame 5 secondes (2 fois 1 seconde pour le LCR) dans le flacon ② Égoutter l'excédent sur papier filtre
 - Plonger la lame 5 secondes (2 fois 1 seconde pour le LCR) dans le flacon ③ Rincer rapidement à l'eau déminéralisée. (DATRY A., nov.dec 1982)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

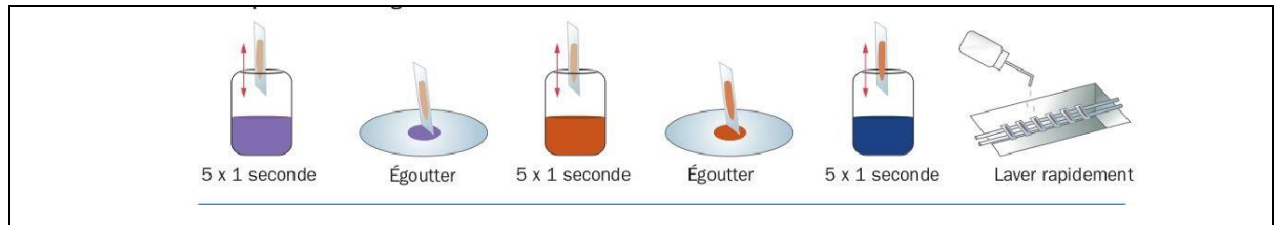


Figure 14: Exemple de coloration avec kit Ral .

3.2.2.5 Résultats : (frottis sanguin) :(DATRY A., nov.dec 1982)

-Noyaux :	chromatine :	pourpre ± dense
- Polynucléaires :	cytoplasme sans ARN :	rosé léger
	granulations	brun-orangé
	éosinophiles:	bleu violacé foncé
	granulations basophiles:	pourpre ± intense
Lymphocytes:	granulations	bleu franc
	neutrophiles:	bleu clair
	cytoplasme avec ARN:	rouge
	cytoplasme sans ARN:	
	granulationsazurophiles:	bleu-gris
Monocytes :		rouge clair
Hématies:	cytoplasme:	rouge-violacé
hyalomère:		bleuté
Parasites sanguins	chromomère:	rouge
(paludisme) cytoplasme :		bleu
Plaquettes:	noyaux :	

(DATRY A., nov.dec 1982)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

3.2.3 Diff-Quikstain :

3.2.3.1 Principe :

L'examen microscopique des frottis sanguins colorés donne un aperçu de la structure des globules sanguins, que le comptage et la différenciation automatique ne permettent pas d'appréhender. La coloration différentielle permet une évaluation différenciée et quantitative des leucocytes. En outre, les variantes morphologiques des érythrocytes et des thrombocytes peuvent être interprétées. Une analyse microscopique des hémogrammes différenciés est indiquée en cas de leucocytose, leucopénie, infections, intoxications, cancers, leucémies et autres affections hématologiques, ainsi que pour l'appréciation de la morphologie des érythrocytes et des thrombocytes. (Diagnostika und Laborbedarf Beratung · Schulung · Kundendienst)

3.2.3.2 Mode opératoire :

Utiliser des frottis séchés à l'air :

- Tremper les lames 5 secondes (5 x 1 seconde) dans la solution de fixation, puis les laisser s'égoutter.
- Tremper les lames 5 secondes (5 x 1 seconde) dans le réactif de coloration I (rouge), et les laisser immédiatement égoutter.
- Tremper les lames 5 secondes (5 x 1 seconde) dans le réactif de coloration II (bleu), et les laisser immédiatement égoutter.
- Rincer les lames à l'eau distillée, laisser sécher. Au cas où une coloration plus intense est souhaitée, il y a lieu d'augmenter le nombre de trempages dans les réactifs de coloration I et II.

Si on souhaite une coloration plus faible, réduire le nombre de trempages (mais pas moins de trois fois). Pour renforcer la coloration des éosinophiles, le nombre de trempages dans le réactif de coloration I doit être augmenté. Pour les basophiles la coloration sera renforcée par un trempage plus fréquent dans le réactif de coloration II. (Diagnostika und Laborbedarf Beratung · Schulung · Kundendienst)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

3.2.3.3 Résultats :

- Erythrocytes : Rose à rouge jaunâtre
- Thrombocytes : Violet à pourpre
- Leucocytes : (Neutrophiles plus nucléaires) : Noyau bleu foncé, cytoplasme rose pâle, granules rougeâtres à violet
- Eosinophiles : Noyau bleu, cytoplasme bleu, granules rouges à orange rouge
- Basophiles : Noyau pourpre à bleu foncé, granules bleu foncé à noir
- Monocytes : Noyau violet, cytoplasme gris bleu à couleur fumée.
- Lymphocytes : Noyaux bleu violet, plasma bleu clair
- Bactéries : bleu
- Espaces intercellulaires clair.(Diagnostika und Laborbedarf Beratung · Schulung · Kundendienst)

3.3 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 nucléaires.

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. (Meinkoth, 2006)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

3.4 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 cellulaire 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. (Meinkoth, 2006)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

4 Examen microscopique des échantillons cytologiques :

L'évaluation microscopique des frottis doit toujours être effectuée dans la même séquence : Après une évaluation macroscopique (« à l'œil ») du frottis pour détecter les zones d'intérêt potentielles (Figure 15A), le frottis est examiné à faible grossissement avec un objectif 10× ou 20× pour détecter les zones où les cellules sont disposées en monocouche et aussi les zones qui sont hyper cellulaires ou ont des caractéristiques de coloration différentes (Figure 15B). Ces zones sont ensuite examinées sous un grossissement plus élevé (avec un objectif à huile 100) . (Dunn J. , 2014)

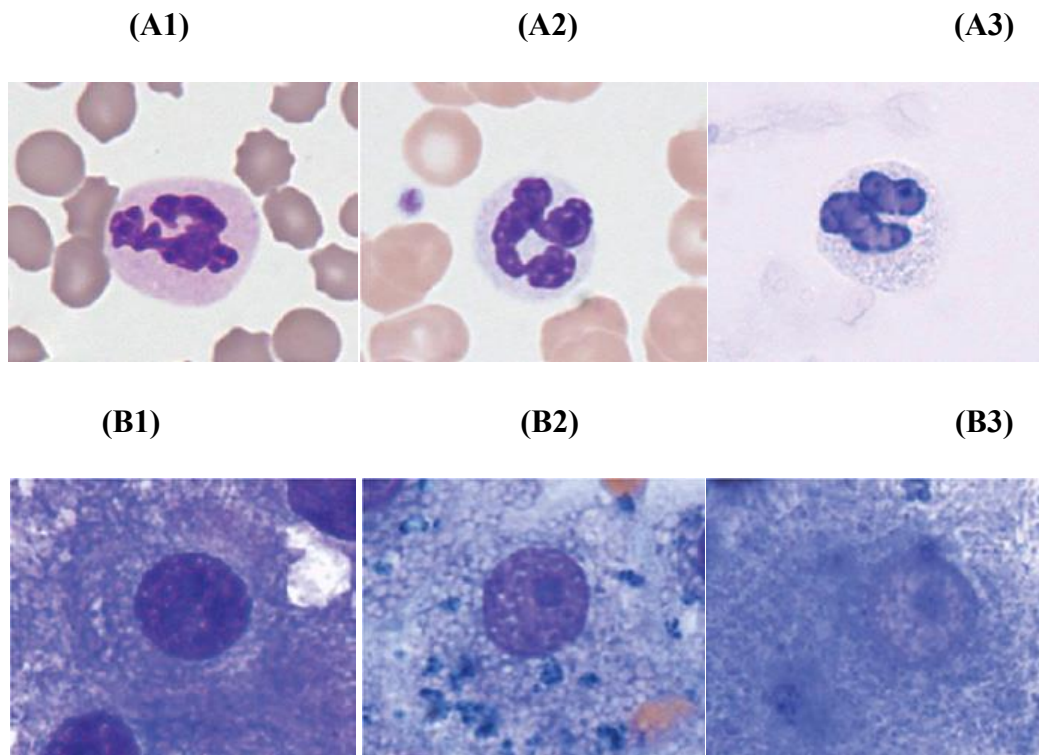


Figure 15: Caractéristiques de coloration :

Neutrophiles (A) et des hépatocytes (B) avec la coloration Diff-Quik (1), la coloration May-Grünwald-Giemsa (2) et la coloration BM (3).

Les colorations Diff-Quik et May-Grünwald-Giemsa donnent des résultats assez similaires ; cependant, la structure de la chromatine des noyaux et des nucléoles peut être vue en plus grand détail avec la coloration May-Grünwald-Giemsa. (Dunn J. , 2014)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

De plus, les granules de mastocytes ne se colorent pas toujours avec la coloration Diff-Quik, de sorte qu'ils peuvent être mal classés comme macrophages. Notez que les érythrocytes sont clairs dans la coloration BM. (Dunn J. , 2014)

4.1 Principes généraux d'interprétation cytologique :

4.1.1 Évaluation initiale de l'échantillon :

L'échantillon doit être examiné sous faible grossissement (10×) pour évaluer la cellulose et l'arrière-plan de l'échantillon et identifier les zones d'intérêt particulier. À ce stade, certains échantillons seront reconnus comme compromis ou inadéquats pour un diagnostic définitif. Certains des problèmes les plus courants comprennent :

- Absence totale de cellules. En l'absence totale de cellules nucléées, un diagnostic définitif ne peut généralement pas être posé.
- Rupture/déformation cellulaire. Les cellules dépourvues de cytoplasme peuvent sembler anormales et ne doivent pas être évaluées.
- Mauvaise coloration.
- Contamination de l'échantillon par des substances exogènes telles que du lubrifiant ou du gel d'échographie.
- L'exposition de la cytologie aux vapeurs de formol modifie les caractéristiques de coloration et donne un aspect basophile clair et "lavé" aux frottis avec la plupart des colorations de type Romanowsky.
- Il arrive parfois que le tissu aspiré ne soit pas du type attendu, par exemple une aspiration présumée de ganglion lymphatique submandibulaire qui produit des cellules épithéliales salivaires normales.
- L'échantillon est trop épais pour l'évaluation des cellules individuelles. (Dunn J. , 2014)

4.1.2 Reconnaissance des artefacts :

La reconnaissance des artefacts est essentielle pour une interprétation correcte des résultats cytologiques. Les artefacts peuvent survenir en raison d'une préparation d'échantillon suboptimale (par exemple, un artefact de broyage entraîne des cellules estompées, des noyaux "nus" ou des filaments cytoplasmiques).

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

Le vieillissement de l'échantillon ou les contaminants tels que les précipités de taches le gel à ultrasons la poudre d'amidon provenant de gants chirurgicaux, le papier de soie ou les fibres végétales ou les grains de pollen.

La mise au point et le d'épointage aideront à différencier entre les contaminants et les structures intracellulaires.

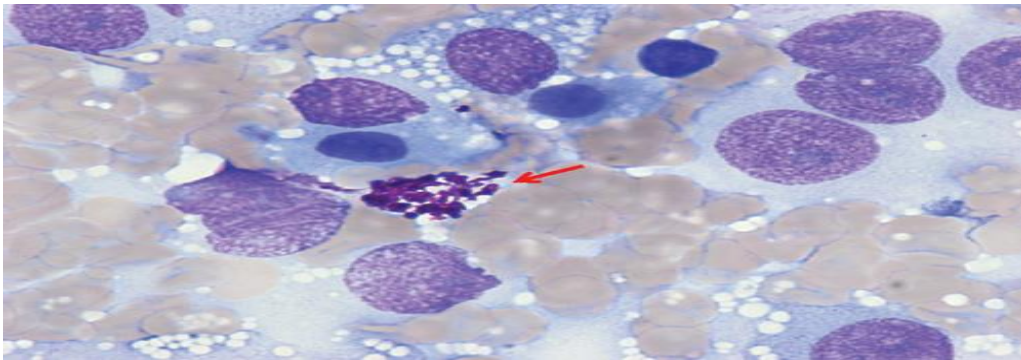


Figure 16: Contamination de l'étalement avec du gel d'échographie (carcinome rénal, chien). Notez la matière granuleuse lilas irrégulière au centre de la photographie. (Dunn J. , 2014)

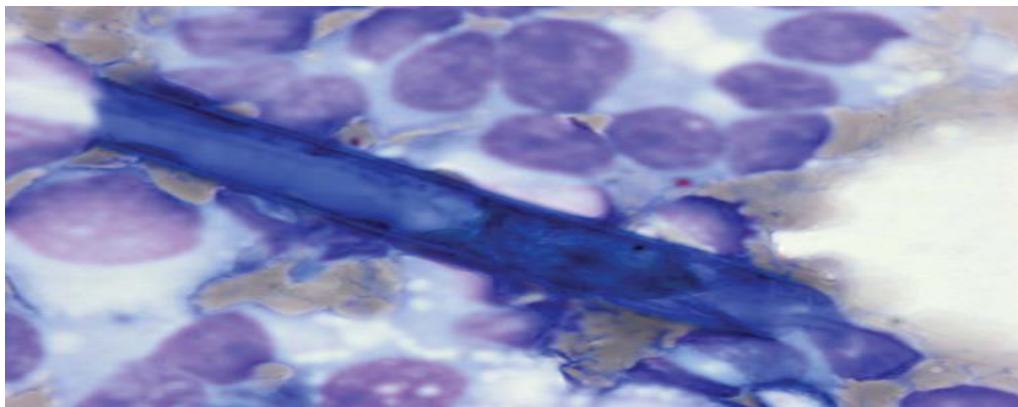


Figure 17: Une fibre végétale peut être vue dans ce fin aspirât d'aiguille d'un carcinome rénal d'un chien. Ce matériau pourrait éventuellement être confondu avec des hyphes fongiques, mais la septation claire est absente, et la mise au point et le d'épointage révèlent que le matériau est placé au-dessus des cellules. (Dunn J. , 2014)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

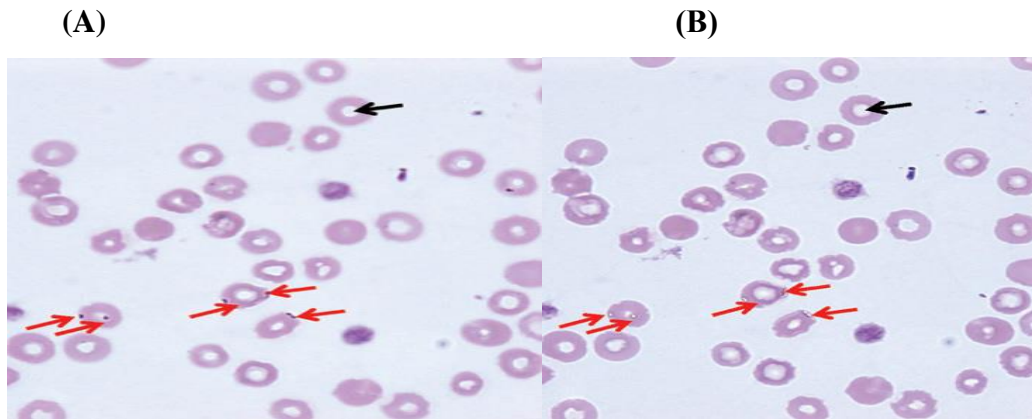


Figure 18: Séchage des artefacts sur un frottis sanguin d'un chat :

(A) Des structures bleuâtres en forme de tige qui pourraient être confondues avec *Haemoplasma sp.* Peuvent être vues sur le bord des érythrocytes (flèches rouges).

Les érythrocytes avec des "trous perforés" (torocytes, flèches noires) ressemblent à des érythrocytes hypochromiques; cependant, l'hypochromasie vraie est caractérisée par un changement de couleur progressif plutôt que par cette apparence perforée. (Dunn J. , 2014)

(B) La mise au point en haut et en bas révèle que les structures bleuâtres vues en (A) apparaissent comme des points réfringents, confirmant ainsi qu'il s'agit d'un artefact de séchage.

Il en va de même pour la reconnaissance des artefacts de séchage affectant les érythrocytes qui peuvent apparaître comme des structures intra-cytoplasmiques bleuâtres ; cependant, après défocusage, ils apparaissent comme des points réfringents (Dunn J. , 2014)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

5 Type d'Adénite :

5.1 Inflammation :

Les échantillons contenant uniquement des cellules inflammatoires sont les plus faciles à interpréter lors du dépistage des échantillons de cytologie "en interne".

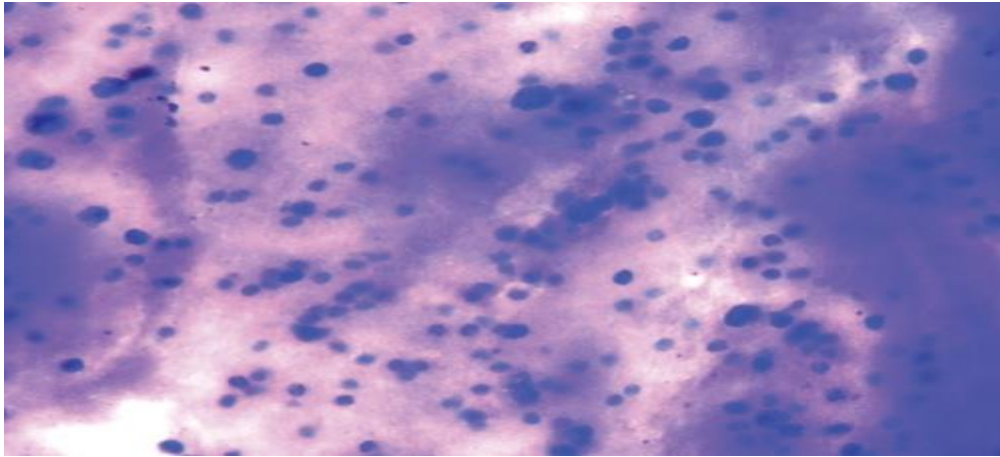


Figure 19 : Évitez les zones des frottis où la cellularité ou l'arrière-plan est trop épais pour être évalué. Les cellules se condensent et les détails internes deviennent impossibles à évaluer. (Dunn J. , 2014)

L'approche générale de l'inflammation consiste à :

- Identifier le type cellulaire prédominant présent afin de classer la réponse inflammatoire dans une catégorie large
- Identifier toute anomalie morphologique et tenter d'établir toute cause évidente de la réponse inflammatoire.

5.2 Inflammation neutrophilique :

Une réponse inflammatoire neutrophilique est celle où 70% ou plus des cellules nucléées sont des neutrophiles (le terme suppuratif est parfois utilisé lorsque le nombre de neutrophiles dépasse 85%).

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

Les neutrophiles peuvent être décrits plus en détail comme non dégénérés ou dégénérés en fonction de leur morphologie. Les neutrophiles non dégénérés sont essentiellement similaires à ceux du sang périphérique, suggérant que l'environnement n'est pas directement dommageable pour eux.

On les observe le plus souvent dans des réponses inflammatoires stériles telles que la méningite ou la polyarthrite immunitaire. La caryolyse se caractérise par un gonflement de la cellule et du noyau en réponse à une insulte dommageable ou toxique pour le neutrophile. (Dunn J. , 2014) .

Les causes incluent l'exposition à des toxines bactériennes ou à des matériaux irritants, par exemple l'urine libre, la bile ou les enzymes pancréatiques. Lorsque le noyau gonfle, il devient plus raréfié, se colore moins intensément et semble plus irrégulier et ouvert.

Lorsque des neutrophiles caryolytiques sont identifiés, il est important de rechercher activement les organismes ou substances causales. L'inflammation neutrophilique septique est diagnostiquée en démontrant des organismes (le plus souvent des bactéries) à l'intérieur des vacuoles cytoplasmiques d'un neutrophile.

En revanche, la caryorrhexie ou la pycnose se caractérise par la présence de restes arrondis et fortement colorés de matériel nucléaire à l'intérieur de la cellule. Ce type de changement dégénératif est plus souvent associé à la mort liée à l'âge des neutrophiles non dégénérés. (Dunn J. , 2014).

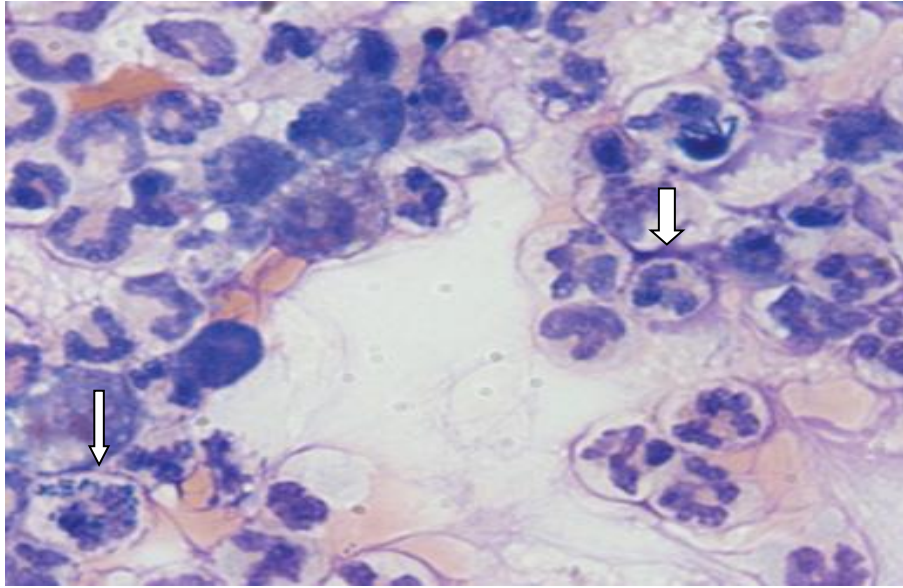


Figure 20: Neutrophiles dégénérés d'un pyothorax chez un chat. Bien qu'il soit toujours reconnaissable, les noyaux sont gonflés et déformés. Des bâtonnets bactériens intracellulaires sont présents (fléchés). (Dunn J. , 2014)

5.3 Inflammation riche en macrophages ou granulomateuse :

Une prédominance des macrophages suggère un processus inflammatoire plus insidieux ou chronique. Certains organismes sont également associés à des inflammations (par exemple, *Mycobacteria spp.*) et dans certains cas peut être observée à l'intérieur macrophage phagocytaires (Figure 21). (Dunn J. , 2014)

Macrophages multinucléés ou « cellules géantes » peut également être noté, en particulier lorsque l'inflammation est en cours ou que des corps étrangers sont présents. Un mélange de macrophages et de neutrophiles est appelé inflammation « pyogranulomateuse » et a des causes similaires.

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

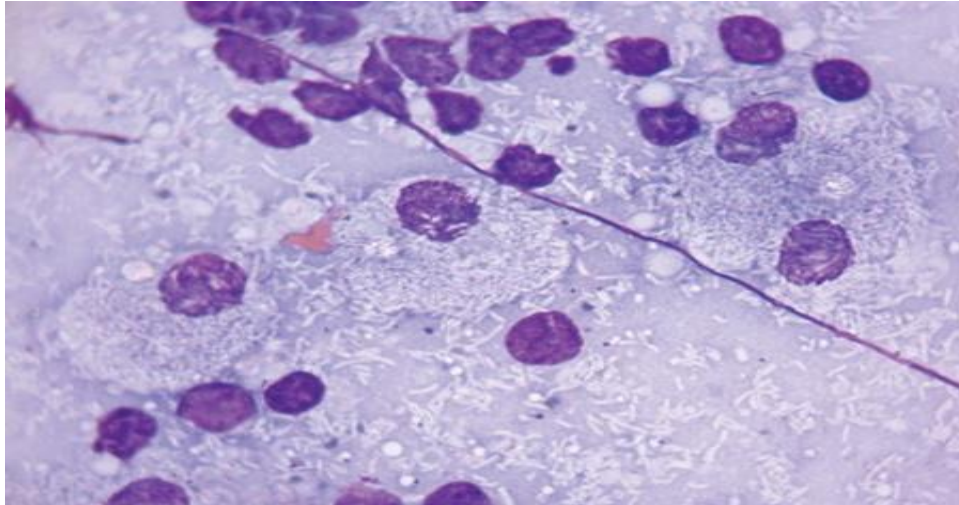


Figure 21: Inflammation riche en macrophages. Dans ce cas, le cytoplasme est rempli de bâtonnets non colorants (*Mycobacteria spp.*). (Dunn J. , 2014)

5.4 Inflammation éosinophile :

Ceci est souvent associé à une hypersensibilité ou à des réactions parasitaires, bien que Le nombre d'éosinophiles puisse également augmenter en réponse paranéoplasique à certains les types de tumeurs (tumeurs mastocytaires, lymphome). Un nombre accru d'éosinophiles peut également être aspiré à partir de lésions du complexe de granulome éosinophile et de organes, par exemple la rate, impliqués dans le syndrome hyperéosinophilique (Figure 22). (Dunn J. , 2014)

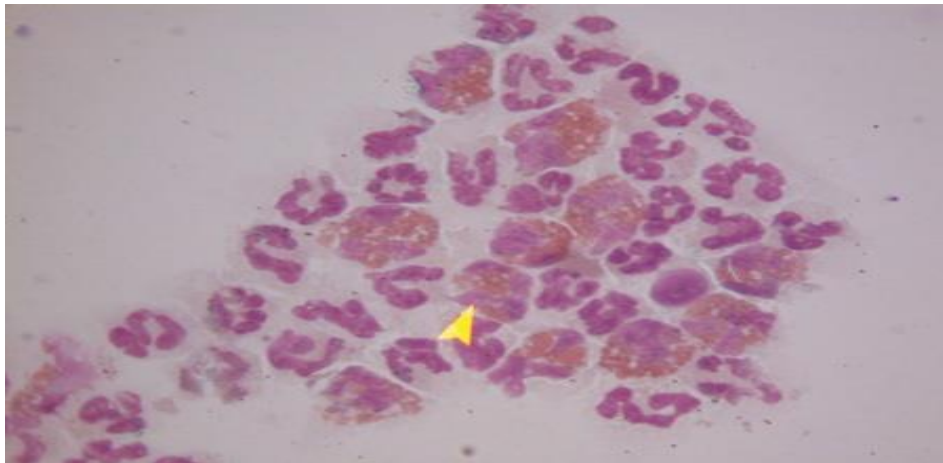


Figure 22 : Inflammation mixte éosinophile (un éosinophile est fléché) et neutrophile dans un lavage trachéal d'un chien atteint de bronchopneumopathie à éosinophiles. (Dunn J. , 2014)

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

5.5 Inflammation mixte :

Lorsqu'aucun type de cellule inflammatoire n'est prédominant, les pourcentages de différents types de cellules doivent être notés et, si possible, une cause sous-jacente identifiée. En plus des types de cellules décrits précédemment, des mastocytes peuvent être notés dans les échantillons de certaines lésions inflammatoires. (Dunn J. , 2014)

5.6 Aspiration de tissus normaux ou hyperplasiques :

En général, les cellules des tissus normaux sont très similaires ou impossibles à distinguer de zones hyperplasiques. Les cellules d'un type cellulaire similaire et leurs noyaux doivent montrer une variation minimale de taille et de forme (figure 19). La plupart des tissus ont un renouvellement cellulaire suffisamment bas pour que les changements morphologiques associés à la prolifération ne soient pas communs. Une variation subtile du rapport nucléaire/cytoplasmique, la profondeur de la basophilie cytoplasmique et des signes d'augmentation du renouvellement tels que la présence de nucléoles peuvent parfois être perçus dans les tissus hyperplasiques actifs, mais généralement le diagnostic est obtenu en démontrant des cellules cytologiquement normales à partir d'une masse ou d'un organe élargi. (Dunn J. , 2014) .

CHAPITRE II : EXAMEN CYTOLOGIQUE

5.6 Néoplasie :

La zone anormale est due à la présence d'une tumeur. Les populations néoplasiques peuvent être bénin (Figure 23) ou malin. Dans le cas des tumeurs bénignes, la cytomorphologie sont plus susceptibles d'être régulières (dans de nombreux cas, les changements sont similaires à ceux de relativement bénins décrits précédemment pour les tissus hyperplasiques).(Dunn J. , 2014)

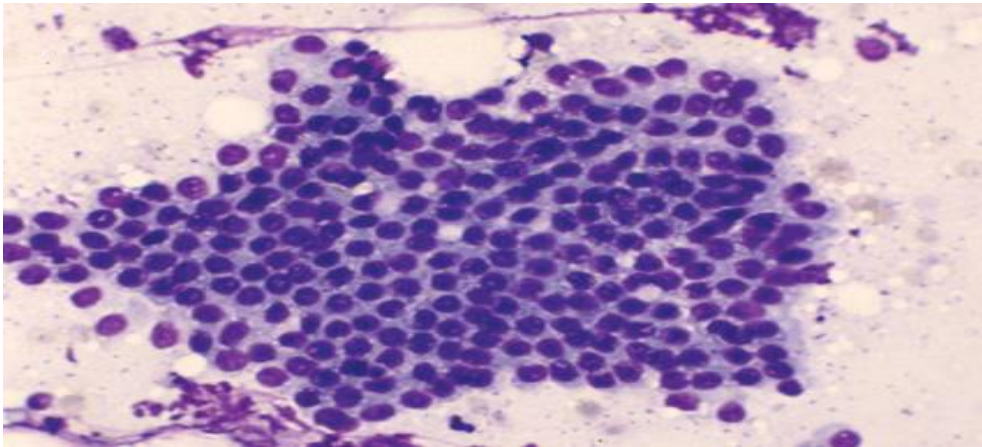


Figure 23: Hyperplasie bénigne de la prostate. Les cellules et leurs noyaux sont relativement uniformes taille dans cette aspiration. La chromatine nucléaire semble pointillée. De minuscules nucléoles arrondis sont présents dans certains noyaux. (Dunn J. , 2014)

Partie expérimentale

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE

1 Durée et lieu d'étude :

Notre étude est réalisée au niveau du service de pathologie des carnivores de l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université de Tiaret. Sur une période s'étendant d'octobre 2023 à 2024.

Nous avons examiné au total 1451 chats et 547 chiens ou on a révélé grâce à l'examen cytologique la présence de diverses pathologies sanguines chez 32 chiens et 6 chats.

2 Démarche clinique :

Tout d'abord, dès la réception du cas, chaque animal est 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 une suspicion clinique. Une fois qu'une pathologie sanguine bactérienne ou parasitaire est suspectée, une ponction des ganglions lymphatique et ou un frotti sanguin est réaliser dans l'immédiat afin de confirmer ou infirmer la présence d'une ou plusieurs de ces pathologies et ceci pour établir une conduite thérapeutique fondée et efficace et avant tout un pronostic.

Tableau 1: Cas étudiés (espèce canine).

cas	Date de reception	Age	sexe	Race
1.	08/10/2023	4ans	♂	Berger allemande
2.	09/10/2023	3ans	♂	lévrier
3.	02/11/2023	2ans	♂	Lévrier
4.	13/11/2023	8mois	♂	lévrier
5.	13/11/2023	4ans	♀	Berger allemande
6.	15/11/2023	3ans	♂	lévrier
7.	06/12/2023	4ans	♂	Levrier
8.	15/01/2024	2ans	♂	Braque allemand
9.	15/11/2023	5ans	♂	Braque allemand
10.	16/11/2023	4ans	♂	lévrier
11.	16/11/2023	4ans	♀	lévrier
12.	10/11/2023	2ans	♂	locale
13.	29/11/2023	4ans	♂	Braque allemand
14.	29/11/2023	18mois	♀	lévrier
15.	30/11/2023	3ans	♂	Levrier
16.	14/12/2023	17mois	♂	lévrier
17.	10/01/2024	18mois	♂	rottweiler
18.	10/01/2024	2ans	♂	Berger allemand
19.	10/01/2024	7mois	♂	lévrier
20.	25/01/2024	4ans	♀	malinois
21.	25/01/2024	3ans	♂	malinois
22.	29/01/2024	+6ans	♀	chihuahua
23.	30/01/2024	4ans	♀	Berger allemand
24.	23/02/2024	4ans	♂	Levrier
25.	14/03/2024	+5ans	♂	Dog argentin
26.	16/04/2024	6ans	♀	Berger allemand
27.	22/04/2024	2ans	♀	staff
28.	25/04/2024	6ans	♂	lévrier
29.	30/04/2024	7ans	♀	chihuahua
30.	02/05/2024	6ans	♂	Braque allemand
31.	05/06/2024	3ans	♀	pointer
32.	11/06/2024	6ans	♀	staff
33.	13/05/2024	3ans	♀	Berger allemand

Tableau 2 : cas étudiés (espèce féline).

Cas	Date de reception	Age	Sexe	Race
1	05/10/2023	6ans	♀	Bleu russe croisé
2	25/01/2024	15mois	♂	Person
3	14/03/2024	3ans	♂	Siamois croisé
4	18/04/2024	4ans	♀	Locale
5	05/05/2024	2ans	♂	Siamois
6	13/02/2024	4ans	♀	Chat de Goutières

3. Matériel :

3.1 : Matériel utilisé pour cytologie ganglionnaire et frottis sanguine :

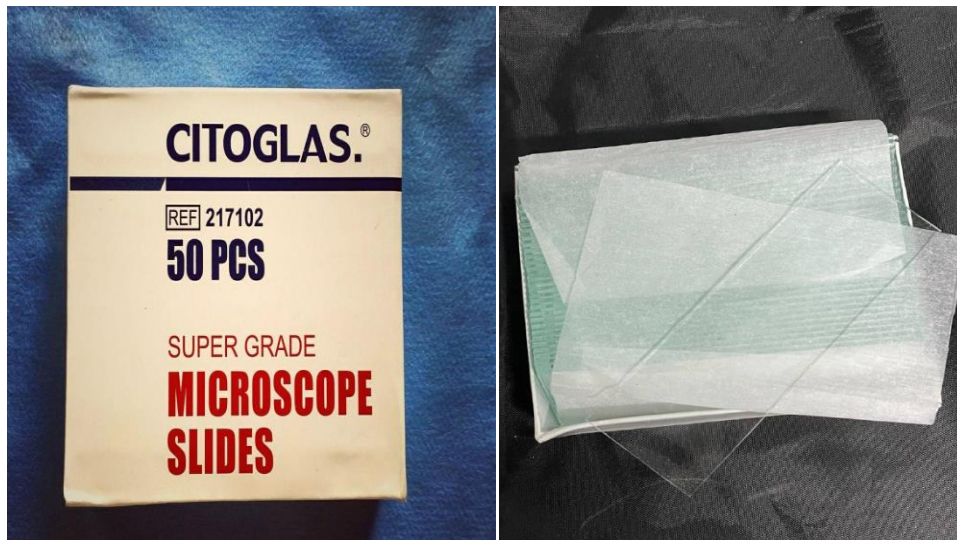


Figure 24: lames (CITOGLAS. REF217102 boîte de 50 PCS).



Figure 25: 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 en solution (REF SPOMG-OT-1L) .



Figure 26: Les colorants May-Grunwald et Giemsa en solution (REF SPOMG-OT-1L).



Figure 27: KIT RAL 555 (RAL.DIAGOSTICS).

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE



Figure 28: BIO-DIFF KIT DiaScan.

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

3.3 Pour la lecture des frottis :

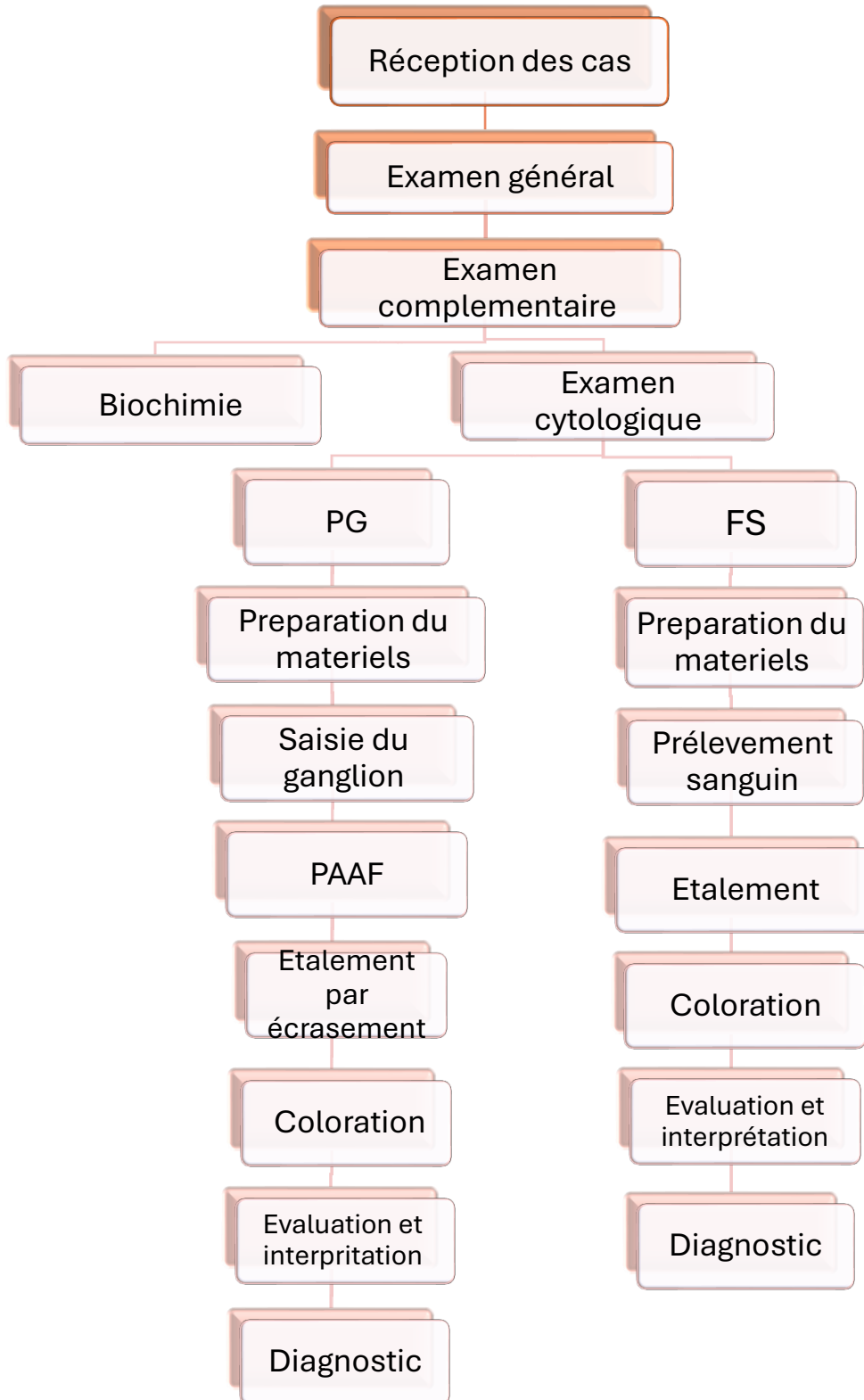
- Microscope optique (KERIN).
- Grossissement de lecture. X4 ; X10 ; X 40, X100.



Figure 29 : Microscope optique (KERIN).

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

4. Organigramme de démarche clinique :



5. Ponction ganglionnaire :



Figure 30: Saisie du ganglion lymphatique.

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



Figure 31: ponction du ganglion lymphatique à l'aiguille fine.

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

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE



Figure 32: dépôt du prélèvement ganglionnaire récolté dans la lame.



Figure 33 : Etalement avant coloration.

6. frottis sanguins :



Figure 34: prélèvement sanguine.

Dr : Slimani Khaled, ISV service pathologie des carnivores Tiaret

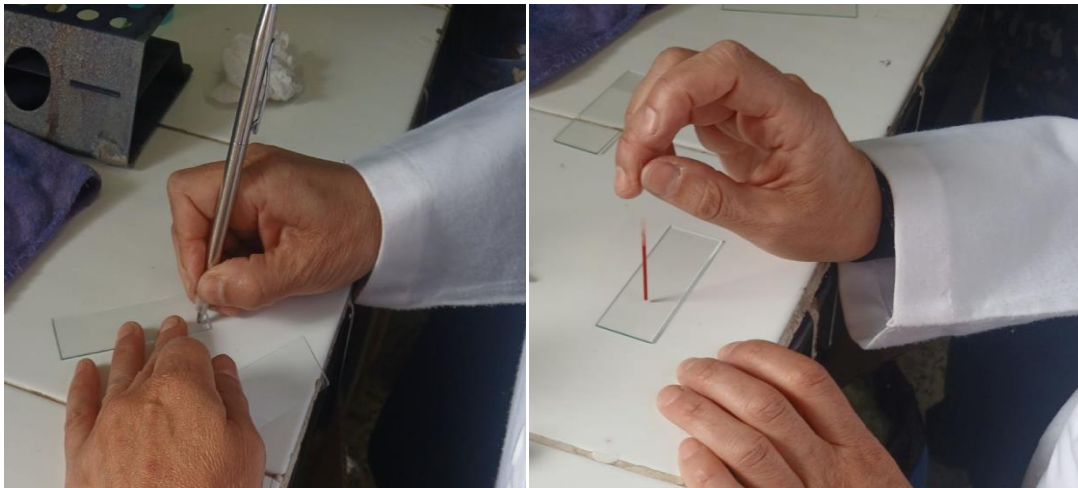


Figure 35 : préparation de frottis.

- Labo de biochimie ISV Tiaret 2024.



Figure 36: Etalement.

- Labo de biochimie ISV Tiaret 2024.

7. Technique de coloration :

7.1 Kit RAL 555 :

Technique :

- Frottis sanguins, parasitologie vétérinaire (Piroplasmes et Pachydermatis) Temps de réalisation : 15 secondes :
 - Plonger la lame 5 fois 1 seconde dans le flacon ① Égoutter l'excédent sur papier filtre
 - Plonger la lame 5 fois 1 seconde dans le flacon ② Égoutter l'excédent sur papier filtre
 - Plonger la lame 5 fois 1 seconde dans le flacon ③ Rincer rapidement à l'eau déminéralisée
- Protozoaires tissulaires (Leishmania, Toxoplasmes, Microsporidies), Cryptosporidium, Pneumocystis carinii et champignons responsables de mycoses profondes Temps de réalisation : 2 minutes et 5 secondes :
 - Plonger la lame 1 minute dans le flacon ① Égoutter l'excédent sur papier filtre
 - Plonger la lame 25 secondes dans le flacon ② Égoutter l'excédent sur papier filtre
 - Plonger la lame 40 secondes dans le flacon ③ Rincer rapidement à l'eau déminéralisée. (DATRY A., nov.dec 1982)
- Histo-Cytologie : Cytologie des coupes de tissus fixés et inclus en paraffine ; mise en évidence de Helicobacter pylori Temps de réalisation : 15 secondes (hors déparaffinage) :
 - Déparaffiner puis hydrater la coupe.
 - Plonger la lame et agiter pendant 7 secondes dans le flacon ②
 - Plonger la lame et agiter pendant 5 secondes dans le flacon ③
 - Rincer à l'eau courante et sécher sur du papier Joseph
 - Agiter la lame pendant 10 secondes dans l'alcool à 90°
 - Arrêter la différenciation par immersion de la lame dans l'alcool absolu
 - Plonger les lames dans deux bains de xylène ou de toluène
 - Monter avec un milieu de montage adapté à base de Toluène/Xylène
- Cyto-bactériologie : cytologie des liquides, des ponctions, des urines et du LCR Temps de réalisation : 15 secondes (1 minute 4 secondes pour le LCR) :

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE

- Plonger la lame 5 secondes (1 minute pour le LCR) dans le flacon ① Égoutter l'excédent sur papier filtre
- Plonger la lame 5 secondes (2 fois 1 seconde pour le LCR) dans le flacon ② Égoutter l'excédent sur papier filtre
- Plonger la lame 5 secondes (2 fois 1 seconde pour le LCR) dans le flacon ③ Rincer rapidement à l'eau déminéralisée. (DATRY A., nov.dec 1982)



Figure 37: l'étape de fixation de la lame.



Figure 38: L'étape de fixation de coloration.

7.2 colorations MGG :

Technique :

-Technique de coloration par recouvrement Temps de réalisation : 14 minutes :

- Couvrir le frottis avec 1ml de May–Grünwald en solution pendant 3 minutes.
- Ajouter avec précautions 1ml de tampon en solution pour Hématologie et réaliser le mélange sans débordement. Laisser le mélange en contact 1 minute.
- Rejeter l'excès de colorât par égouttage ou rinçage rapide
- Couvrir le frottis avec le colorant de Giemsa R diluée au 1/30 dans un tampon en solution pour hématologie pendant 10 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courante ou dans un tampon en solution pour hématologie pendant 10 secondes.
- Décoloration par bain, Temps de réalisation : 14 minutes :
 - Bain de May–Grünwald en solution pendant 3 minutes.
 - Bain de tampon en solution pour hématologie pendant 1 minute.
 - Bain de coloration de Giemsa R dilué au 1/20 dans un tampon en solution pour hématologie pendant 10 minutes.
 - Rinçage rapide à l'eau courante ou dans un tampon en solution pour hématologie pendant 10 secondes. (DUHAMEL G., 1984 1989).

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE



Figure 39: coloration par May–Grünwald.

- Labo de biochimie ISV Tiaret .2024



Figure 40 : rinçage.

- Labo de biochimie ISV Tiaret .2024



Figure 41: préparation de GIEMSA.

- Labo de biochimie ISV Tiaret 2024.



Figure 42 : coloration par Giemsa.

- Labo de biochimie ISV Tiaret 2024.



Figure 43: Séchage.

- Labo de biochimie ISV Tiaret 2024.

CHAPITRE II :
RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 3 : Résultats d'étude des cas canins

N°	Motif de consultation	Suspicion	Prélèvement	interprétation	Diagnostic
1.	Amaigrissement	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	Adenite granulomateuse avec présence d'amastigotes en intra-cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose
2.	Masse au niveau du cou toux	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	Adenite lymphocytaire hyperplasique (dominante de petites lymphocytes), présence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
3.	Dérmateite récidivante	Pyodermite Leishmaniose DAPP	Ponction ganglionnaire	Adenite lymphocytaire avec présence d'amastigotes en extra cytoplasmique dominante	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
4.	Masse au niveau de l'appareil genital Saignement	Sarcum de sticker Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	Adenite granulomateuse Présence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
5.	Epistaxis Abatement	Ehrlichiose Anaplasmose Aspergillose	Frottis sanguine	-Présence d'anaplasma dans les parois erythrocytaire.	Anaplasmose
6.	Lesions dérmiques	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire Frottis sanguin	Adenite granulomateuse Présence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
7.	Alteration brutale de l'état general	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	-Adenite hyperplasique mixte à petites lymphocytes et macrophages sur un lit de necrose diffuse avec présence d'amastigotes en intra et	Leishmaniose cutaneo- muqueuse

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE

				extra cytoplasmique des macrophages (charge importante) -Anisocytose marquée, forte infiltration polynucléaire neutrophiles	
8.	Lesions cutanées	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	Adenite granulomateuse Présence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
9.	Lesions cutanées généralisées	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	Adenite granulomateuse Présence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
10.	Masse au niveau du membre antérieur droit	Ulcere Mastocytome Fibrome articulaire	Ponction ganglionnaire	Adenite granulomateuse Présence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
11.	Ballonnement abdominal	Ascariidose Intoxication Ascite	Ponction ganglionnaire	Adenite pyogranulomateuse avec présence d'amastigotes en tres forte charge en intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose viscérale
12.	Examen general Présence de tiques	Babésiose	Frottis sanguin	Présence de corpuscules basophiles intra erythrocytaire en poire compatible au trophozoites de babesiose	Babésiose
13.	Probleme oculaire	Blepharo-conjonctivite Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	Adenite granulomateuse Présence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
14.	Fracture des phalanges membre postérieur droit	Pododermatite Fracture Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	-Adenite hyperplasique lymphocytaire présence d'amastigotes intra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE

		Anaplasmosse	Frottis sanguin	-Presence de corps basophiles au parois des erythrocytes	
15.	Boiterie à chaud Plaies cutanées	leishmaniose	Ponction ganglionnaire	Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
16.	Toux Spasme tracheal Baisse des performances physiques Glaires, ptyalisme	Emphysema pulmonaire	Frottis sanguin Ponction ganglionnaire	-Presence de corpuscules basophiles intra erythrocytaire en poire compatible au trophozoites de babesiose - Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Babesiose Leishmaniose cutaneo-muqueuse
17.	Vaccination Dermatose	Leishmaniose Dermatite bacterienne	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
18.	Amaigrissement Diarrhée	Syndrome de malabsorption intestinale Leishmaniose Giardiose	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages (très faible charge)	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
19.	Aphes buccales	Papillomatose Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
20.	Dermatose chronique	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
21.	Dermatose chronique	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE

22.	Probleme oculaire bilateral	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
23.	Abdomen gonflé	Pseudo gestation Parasitisme Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	Adenite hyperplasique granulomateuse presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophage	Leishmaniose forme viscerale
24.	Plaie au niveau de la cage thoracique Champignons et parasitisme	Sarcum de sticker Leishmaniose anaplasnose	Ponction ganglionnaire Frottis sanguin	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages (Trés forte charge). -Presence d'anaplasma dans les parois erythrocytaire.	Leishmaniose cutaneo- muqueuse Anaplasnose
25.	Perte de poids	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire Liquide céphalo- rachidien	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages (Trés forte charge). -Fortement hemorragique	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
26.	Asthénie, anorexie, difficultée à la miction	Leishmaniose Ehrlichiose	Ponction ganglionnaire	Presence de morules d'Ehrlichia intra cytoplasmique.	Ehrlichiose monocytaire
27.	Prostration Amaigrissement	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages.	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
28.	Perte de poids Hypotrichose	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse	Leishmaniose cutaneo- muqueuse

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE

		Infestation par les tiques		Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages.	
29.	Anorexie Polydipsie Apparition des chaleurs	Leishmaniose Endometrite MRC Anaplasmosse	Frottis sanguine	-Presence d'anaplasma dans les parois erythrocytaire.	Anaplasmosse
30.	Ulcères cutanés	Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages.	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
31.	Prostrée Elle a mangé un hérisson	Babésiose Ehrlichiose Listériose	Frottis sanguin	-Presence de corpuscules basophiles intra erythrocytaire en poire compatible au trophozoites de babesiose et hemolyse	Babesiose
32.	Amaigrissement	Babésiose Syndrome hemolytique Ehrlichiose Leishmaniose	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra et extra cytoplasmique des macrophages.	Leishmaniose cutaneo- muqueuse
33.	Infection au niveau anal	Cancer anal Parasitisme	Frottis sanguin	-Presence de corpuscules basophiles intra erythrocytaire en poire compatible au trophozoites de babesiose et hemolyse.	Babesiose

Tableau 4 : Résultats d'étude (cas félins) :

N°	Motif de consultation	Suspensions	Prélèvement	interprétation	Diagnostic
1	Boiterie Traumatisme	Maladie renale chronique Felv Hemobartonellose	Frottis sanguin	Presence de structures coccoïde au parois des erythrocytes Syndrome hemolytique etendu	Hemobartonellose (AIF)
2	Crises d'épilepsie Ictere	Cardiopathie Hemobartonellose	Frottis sanguin	Presence de structures coccoïde au parois des erythrocytes Syndrome hemolytique etendu	Hemobartonellose (AIF)
3	Anorexie Prostration	Hemobartonellose Tyfus Parasitisme	Frottis sanguin	Presence de structures coccoïde au parois des erythrocytes Syndrome hemolytique etendu	Hemobartonellose (AIF)
4	Masse au niveau anal Perte de poils progressive	Felv Hemobartonellose	Frottis sanguin	Presence de structures coccoïde au parois des erythrocytes Syndrome hemolytique modéré	Hemobartonellose (AIF)
5	Alteration de l'état general Vomissement Eternement	Suivi d'une sur infection Coryza Infection chronique systemique	Frottis sanguin	Presence de structures coccoïde au parois des erythrocytes	Hemobartonellose (AIF)
6	Abcès buccaux	Granulome inflammatoire	Ponction ganglionnaire	- Adenite granulomateuse Presence d'amastigotes intra cytoplasmique des macrophages.	Leishmaniose feline

- **Chez l'espèce canine :**

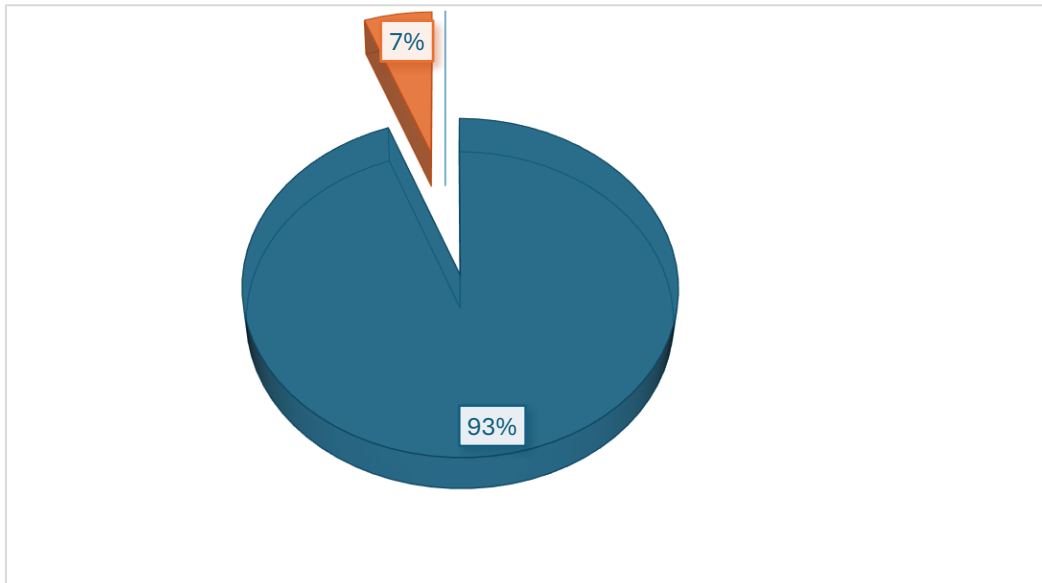


Figure 44 : répartition des cas diagnostiqués positifs aux maladies du sang (33 chiens) par rapport au cas consultés (547 chiens)

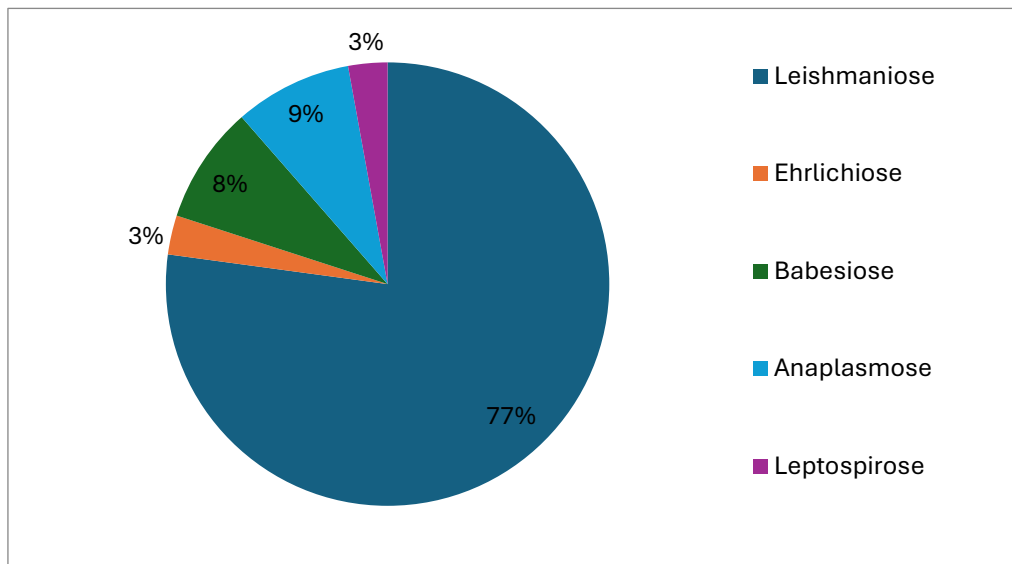


Figure 45 : identification des maladies du sang diagnostiquées par cytologie chez l'espèce canine.

CHAPITRE II : Résultats et discussion

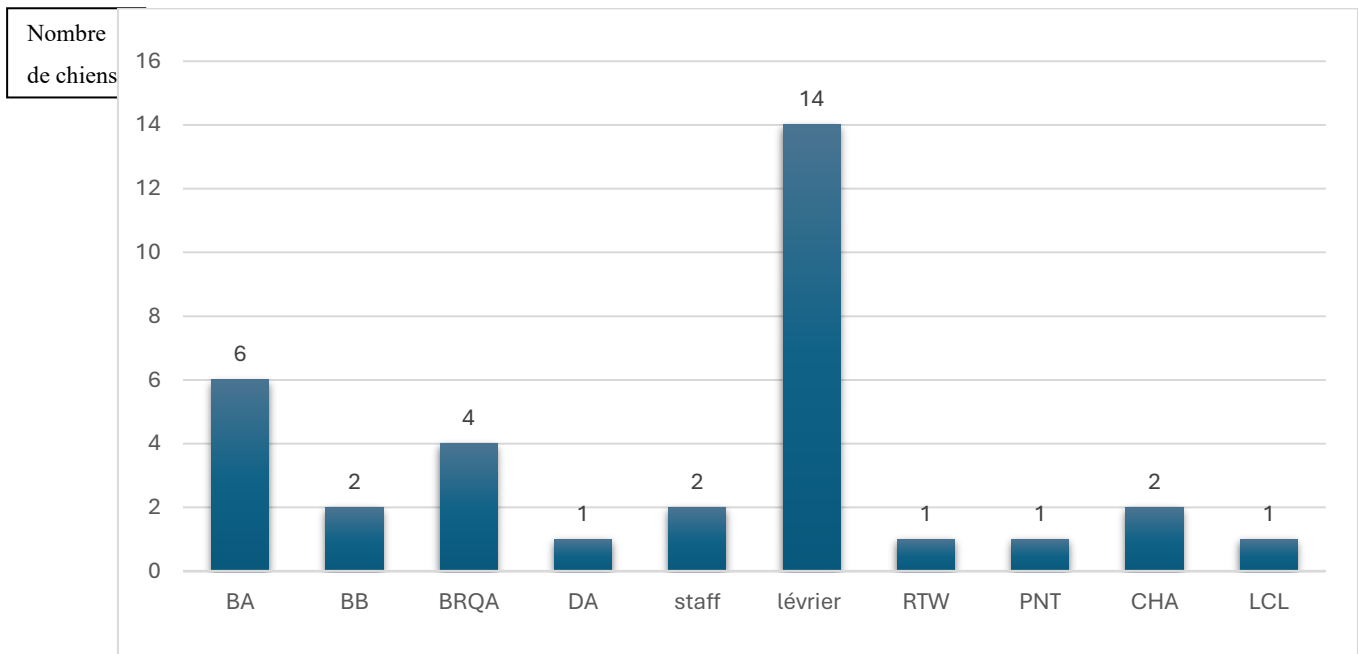


Figure 46 : Répartition de maladies du sang diagnostiquées par cytologie selon la race.

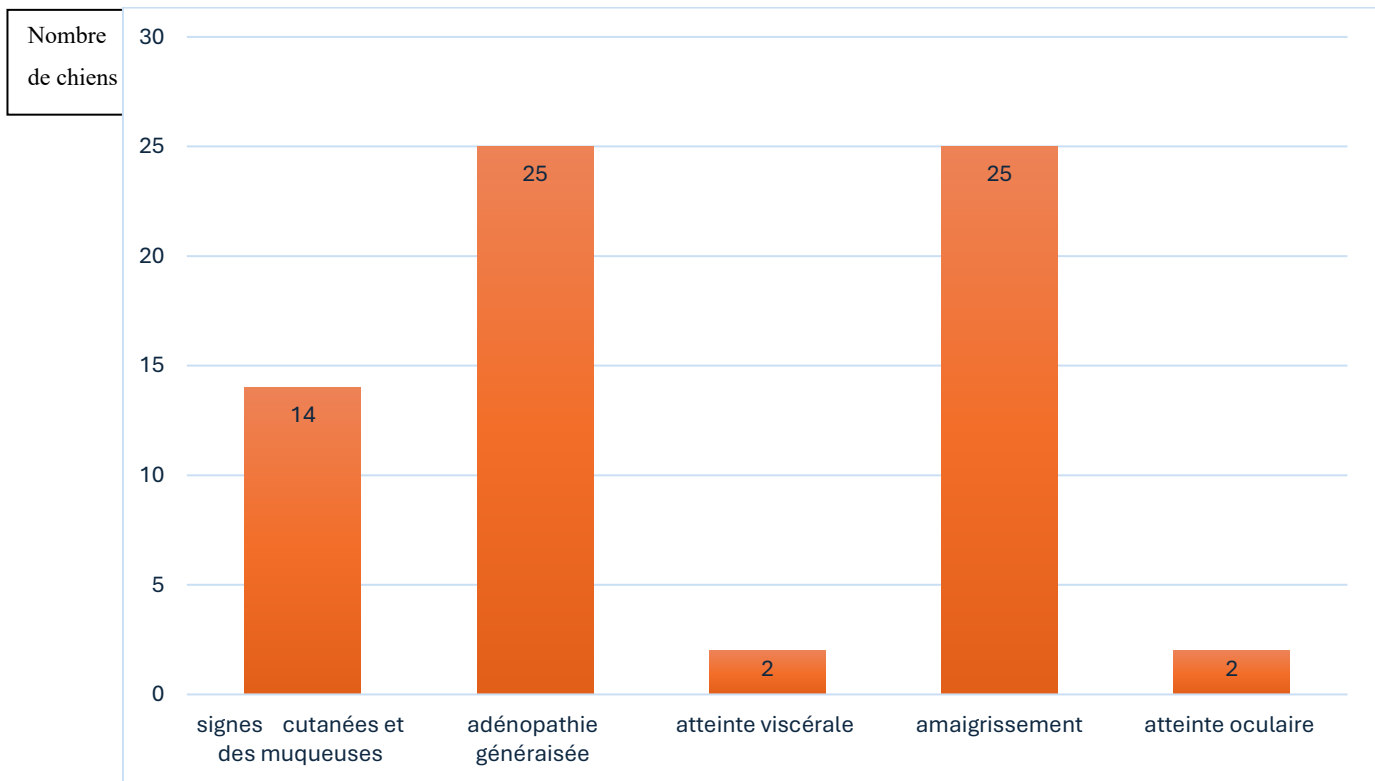


Figure 47 : Répartitions des symptômes exprimés chez les chiens atteints de leishmaniose.

- Chez l'espèce féline :

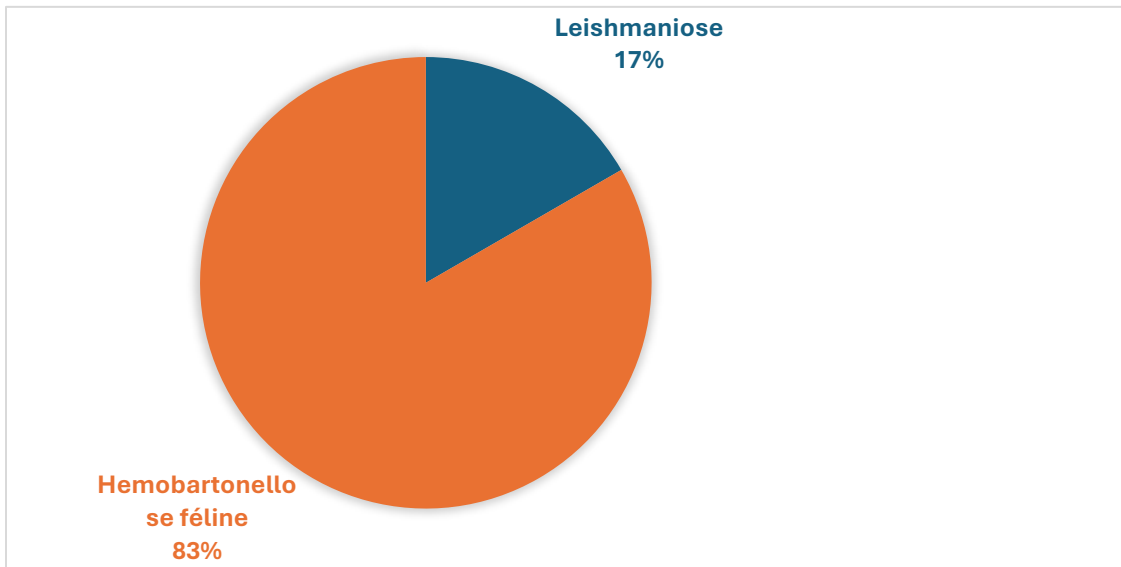


Figure 48 : Répartition des maladies du sang diagnostiquées par cytologie rencontré chez l'échantillon étudié de chats (6)

Présentation des cas :

Cas 01 :



Figure 49 : Lévrier femelle âgée de 3ans consulté pour une distension abdominale (posture de batracien) avec vomissement fréquente et amaigrissement. (État de choc).

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

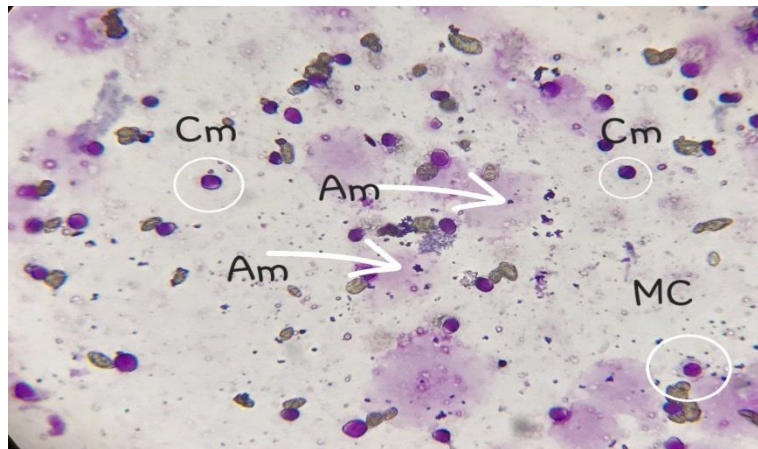


Figure 50: Vue microscopique d'un frottis de liquide d'ascite après coloration DIFF QUICK qui montre la présence d'amastigotes intra et extra cytoplasmiques (Am) des cellules mésenchymateuse (Cm) macrophage (Mc) chez un lévrier. (40X)

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

Cas 02 :



Figure 51 : lévrier mal âgé de 3ans ; consulté pour des lésions dermiques et les verrues au niveau de cavité buccale, avec amaigrissement.

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

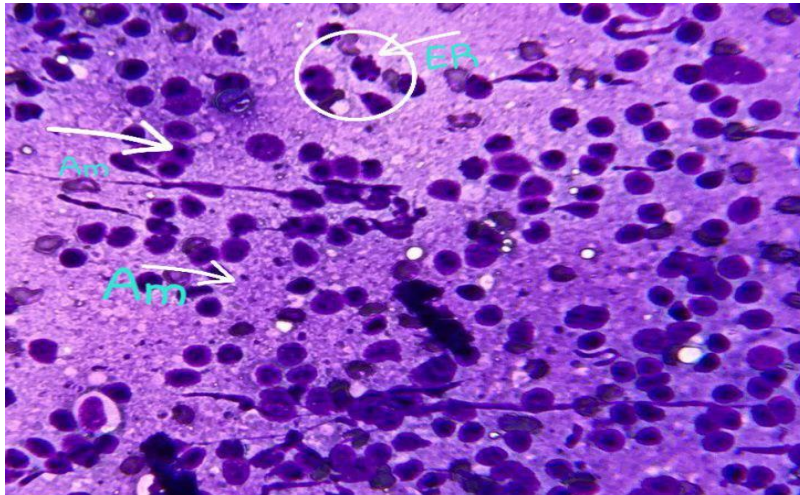


Figure 52 : vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration, DIFF QUICK qui montre une adénite granulomateuse présence une co-infection (leishmanique et ehrlichiose) avec présence d'amastigotes extra cytoplasmiques (Am) et des amas bactériens(ehrlichia) intra cytoplasmique, des petits lymphocytes matures et des macrophages (Mc) et des GR (100X).

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

Cas 03 :



Figure 53 : lévrier male âgé 6 ans ; de consulté pour affaiblissement et amaigrissement

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

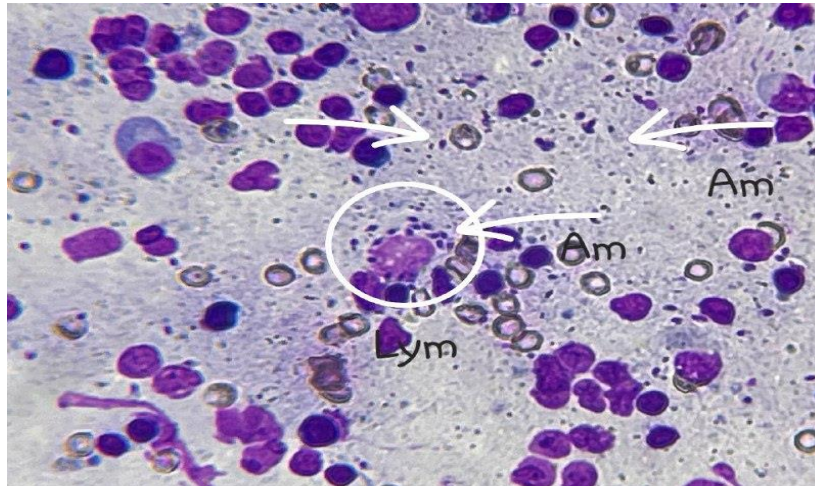


Figure 54: vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration, KIT RAL. Qui montre une adénite granulomateuse leishmanique avec présence d'amastigotes extra et intracytoplasmiques (Am) des petites lymphocytes matures (Lym) et des macrophages (Mc) et des GR (100X).

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

Cas 04 :



Figure 55: chihuahua femelle âgée de 7 ans ; consulté pour amaigrissement et abattement.

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

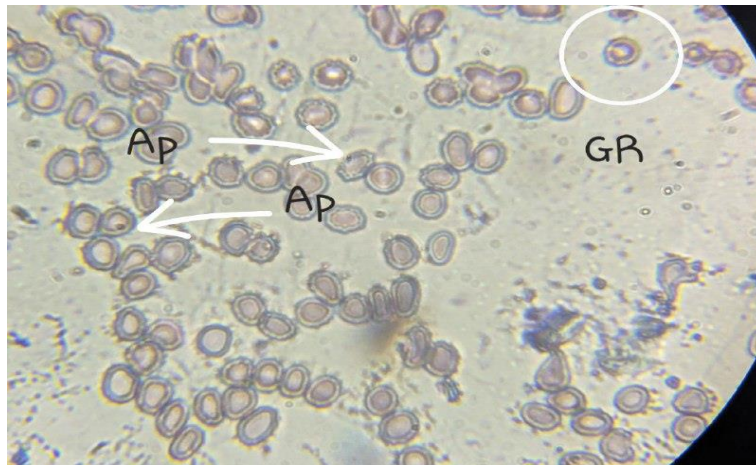


Figure 56: vue microscopique d'un frottis sanguin après coloration DIFF QUICK qui montre la présence d'anaplasma (Ap) à l'intérieur du globule rouge (GR) chez un chihuahua (100X).

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

Cas 05 :



Figure 57: chat femelle âgée 10 ans a race locale consulté pour lésion au niveau cavité buccal.

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

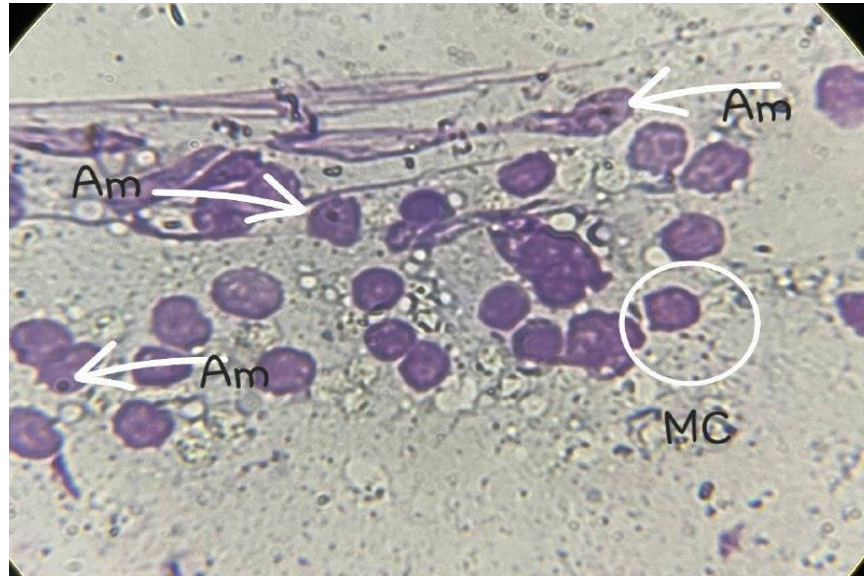


Figure 58: vu microscopique de ponction ganglionnaire après coloration, DIFFQUICK présence de (Am) intra cytoplasmique (positive) . (100X).

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

Cas 06 :



Figure 59 : siamois male âgé de 2 ans consulter pour affaiblissement et anorexie avec pâleur des muqueuses.

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

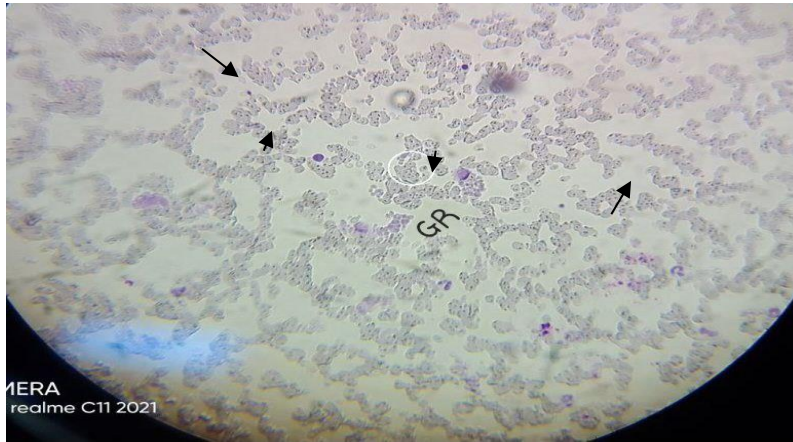


Figure 60 : vu microscopique de frottis sanguin après coloration KIT RAL 555 présence de hemobartonelle epi-celulaire (40X).

Hemobartonelle epi-celulaire (flèches).

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

Cas 07 :



Figure 61 : berger Allemand femelle âgée de 3 ans qui souffre de problèmes génitaux et une infection anale.

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

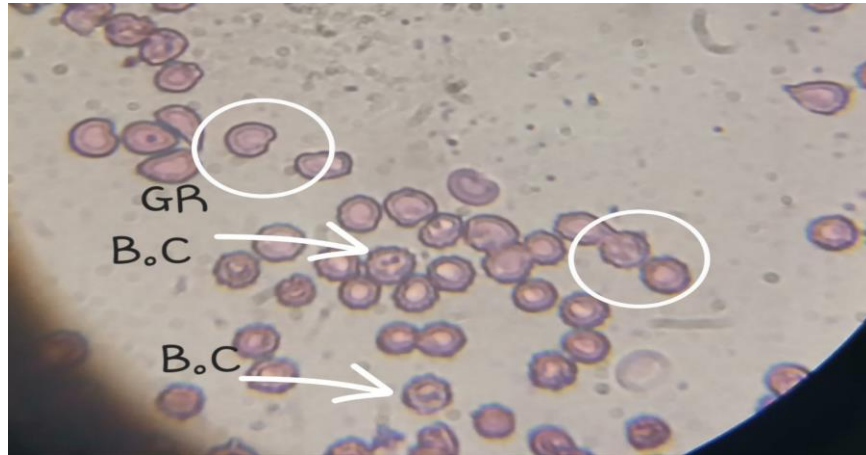


Figure 62: vue microscopique de frottis sanguine de BA après coloration DIFF QUICK, présence de babesia dans les globule rouge (100X).

Flèches. babesia canis (B.C).

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

Cas 08 :



Figure 63 : berger Allemand femelle âgée à 6 ans consultée pour asthénie et anorexie, perte de poids, douleur à la miction.

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

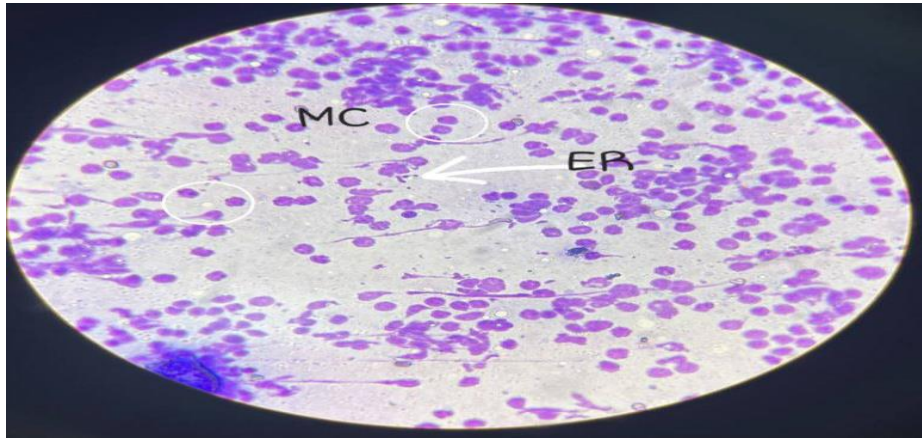


Figure 64 : vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration, KIT RAL. Qui montre une adénite granulomateuse ehrlichiose avec présence d'ehrlichia intra cytoplasmiques des petites lymphocytes matures (Lymph) et des macrophages (Mc) et des GR (40X).

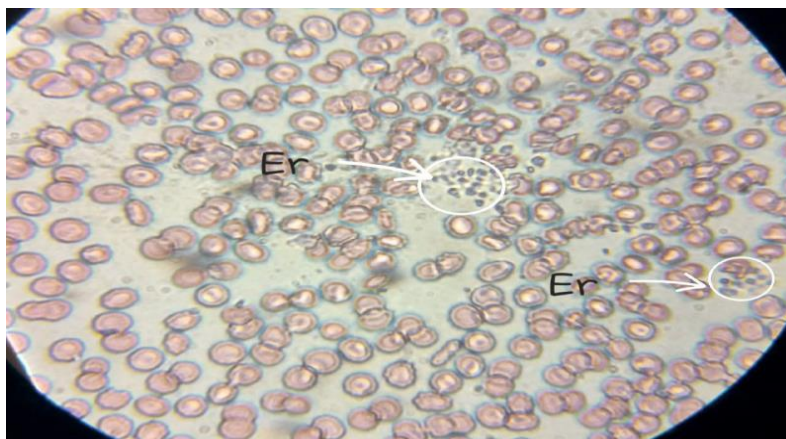


Figure 65 : vue microscopique d'un frottis sanguine de BA après coloration KIT RAL, que montre la présence de morules d'ehrlichia extra cytoplasmique. (100X).

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

Cas 09 :



Figure 66 : staffe male âgé à 6 ans consulté pour affaiblissement et amaigrissement et des lésion cutané (suspicion de leishmaniose).

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

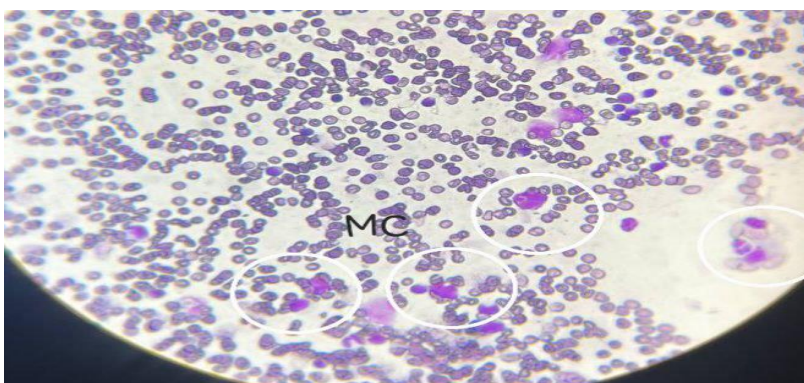


Figure 67: vue microscopique d'une ponction ganglionnaire après coloration, DIFF QUICK, on a observé absence des AM intra et/ou extra cytoplasmique. Donc leishmaniose négative. (40 X).

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

Discussion :

Durant notre étude à partir de 1451 cas de chats et 547 cas de chats reçus à la clinique de pathologies des carnivores de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret où 7 cas félins et 33 cas canins ont été diagnostiqués positifs à une ou plusieurs maladies du sang d'origine bactérienne ou parasitaire grâce à l'examen cytologique.

Cette démarche diagnostique s'avère être très efficace, pratique, peu invasive et est un test très sensible qui dans la plupart des cas révèle des pathologies cliniquement indétectables vu leur polymorphisme symptomatique pour la plupart, surtout celles qui sont dues aux protozoaires.

La sensibilité élevée de ce test combinée à l'expérience du clinicien permet de diagnostiquer et d'interpréter avec le plus de certitude les échantillons étudiés en révélant la présence de ces pathologies et permettre de mettre un pronostic et un traitement précoce et efficace.

Sa pratique s'est révélée importante en tant qu'examen complémentaire car il remplace dans beaucoup de cas le recours à l'anapath ceci d'un intérêt de temps et d'établissement de traitement aussi bien en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine. À la pratique les techniques de PAF avec ou sans aspiration ce révèle la plus intéressante avec un taux de fiabilité élevée et moins de risque de fausse lecture ou de contamination et moins laborieuse pour le manipulateur mais aussi pour le patient. (Dunn J. , 2014)

Comparativement l'utilisation des différents colorants disponibles sur le marché algérien qui sont de type Romanowsky on a le RAL 555 le MGG et le DIFF-QUICK, révèlent des résultats tout à fait respectables mais d'intérêt pratique le RAL 555 demeure le plus intéressant car sa technique durant 15 secondes pour les prélèvements sanguins et 2min 15sec pour les parasites tissulaires types leishmania pouvant être réalisés en même temps que le patient est encore sur le table de consultation où d'un autre côté la technique pour le MGG demeure plus longue (15 min à 20 min), mais au final la lecture des prélèvements dépend de l'habitude du manipulateur avec chacun des colorants. (Dunn J. , 2014)

CHAPITRE II : Résultats et discussion

Le prélèvements sanguin et échantillon ganglionnaire périphérique sont les plus significatifs vu le tropisme des maladies étudiés en tant que localisation définitive ou transitoire de l'agent pathogène. (Thrall, , 2012).

La lecture faite pour la plupart des cas en grossissement 40 qui rend visible la plupart des agents recherchés pour un intérêt de certitude et de différentiation le grossissement 100 avec huile à immersion est entrepris ceci est confirmé par (Meinkoth, 2006).

Durant notre étude la période d'activité vectorielle s'est révélée en relation étroite avec l'apparition de pathologies spécifique tel que la leishmaniose en période d'automne ou la babesiose en période de printemps qui est en corrélation avec (Sepposaari, 2019).

Pour l'espèce canine la leishmaniose dans sa forme cutanée reste la plus dominante ceci en relation avec l'environnement de la wilaya de Tiaret qui est parfait pour la pérennité de cette maladie et aussi en relation avec la sensibilité raciale du lévrier qui à force de confronter au vecteur finis pas contracter la maladie. Avec une symptomatologie allant de la plus évocatrice : lésions cutanées, ulcères, adénopathies généralisées jusqu'au simple essoufflement, chute de performances et asthénie. Pour la forme viscérale reste tout autant rare voire moins fréquente qui dans notre cas égale à 7 % des cas de leishmaniose confirmés. (Sepposaari, 2019)

Quant à la babesiose elle vient en seconde position avec l'anaplasme à 9% chacune puisque toute les deux sont des maladies vectorielles saisonnières avec la présence de porteurs chroniques révélé chez les bergers de l'atlas et les races croisés vivant au contact du milieu extérieur. (Birkenheuer AJ, 2005)

Viens enfin l'Ehrlichiose à 3% qui à été diagnostiqué sans symptômes frappants mais une fois pris en charge le chien s'est rétablie d'où la révélation d'une affection asymptomatique grave. Cette pathologie est spéciale du fait de la contamination du vecteur qui est la tique en automne pour pouvoir la transmettre au printemps mais la plupart n'y survivent même pas à l'hiver donc son incidence réelle est basse. (Greene CE, 1984)

CHAPITRE II : Résultats et discussion

Venant à l'espèce féline ou l'incidence de ces maladies était très faible (0.4%) mais très grave lorsqu'elles se manifestent principalement l'hémobartonellose féline était rencontrée à 78% des cas totaux ayant comme symptomatologie l'asthénie, abattement et des manifestations neurologiques telles que les tremblements, ataxies, convulsions qui encore une fois témoignent de l'impact médical de ces pathologies sur les patients. (McGrotty YL, 2002)

Des cas de leishmaniose féline ont été diagnostiqués ou on a seulement choisi un seul ceci est suffisant pour susciter un intérêt envers cette maladie qui est vraiment présente sur le territoire algérien où elle a été découverte pour la toute première fois. (Sanchez-Robert E, 2008)

On a noté la concomitance des maladies à tropisme sanguin et lymphatique telles que la leishmaniose et l'anaplasmose ou avec la babesiose ou l'une fragilise le système immunitaire et l'autre se développe. (Sepposaari, 2019)

On a aussi constaté l'absence de toute protection des animaux ici on parle de chiens majoritairement de protection contre les vecteurs soit par usage d'antiparasitaire spot ou tel que les colliers antipuces et dérivés ou antiparasitaire à diffusion systémique ceux-ci très importants en période de chasse qui tombe en plein automne où le phlébotome est le plus actif ou bien au printemps où les puces pullulent ceci est démontré par (Sepposaari, 2019)

Conclusion :

Nous concluons par cette étude que le diagnostic cytologique constitue une étape clé comme examen de première intention face à une suspicion clinique d'une pathologie du sang chez le chien et le chat. Il permet ainsi un diagnostic de certitude facile à réaliser, rapide et permet une confirmation d'une pathologie donnée. Il faut signaler également la nécessité de confronter le résultat de l'examen cytologique avec le tableau clinique ce qui permet une meilleure précision des résultats diagnostiques.

Dans la plupart des cas rencontrés la cytologie s'est révélée tranchante et précise car ces pathologies ont un polymorphisme symptomatique ou même pire des manifestations asymptomatiques donc l'observation microscopique directe des agents pathogènes à partir du prélèvement sanguin ou lymphatique soigneusement effectués ; néanmoins certaines situations cliniques peuvent nécessiter de combiner l'examen par cytologie avec d'autres techniques d'examen complémentaires plus sensibles (PCR, ELISA ...etc). Particulièrement lorsque l'interprétation des frottis s'appuie sur une confusion et une incertitude en raison d'un polymorphisme de symptômes clinique ou de présence concomitante de plusieurs pathologies infectieuses opportunistes à la fois en raison d'une défaillance immunitaire chronique par une évolution chronique de la maladie primaire exemple (leishmaniose, Ehrlichiose ...etc).

Recommandation :

Rappeler aux propriétaires l'intérêt majeur de l'utilisation des antiparasitaires externes en périodes à haute activité vectorielle.

Formation des vétérinaires cliniciens sur l'examen cytologique afin qu'il soit intégré comme examen de routine dans leur clinique.

Bibliographie :

1. asker S, B. J. (2004). *Diagnosis of haemoplasma infections in Australian cats using real-time PCR assay*. J Feline Med Surg 6:345-354.
2. Barbosa Santos EG, M. M. (1998). *N-Methylglucamine antimonate (SbV+): intralesional canine tegumentary leishmaniasis therapy*. Parasite 5:175-180.
3. Birkenheuer AJ, C. M. (2005). *Geographic distribution of babesiosis among dogs in the United States and association with dog bites: 150 cases (2000–2003)*. J Am Vet Med Assoc 227:942-947.
4. Camacho AT, P. E. (2003). *Ixodes hexagonus is the main candidate as vector of Theileria annae in northwest Spain*. Vet Parasitol 112:157-163.
5. Cauduro A, F. P. (2011). *Paraparesis caused by vertebral canal leishmaniotic granuloma in a dog*. J Vet Intern Med 25:398-399.
6. DATRY A., L. G.-L. (nov.dec 1982). *Coloration rapide des plasmodies et des microfilaires par les colorants solubles dans l'eau*. Med. Trop., vol 42, .
7. de Moraes HAS, D. A. (2003). *Risk factors in the hemogram of dogs seropositive for Babesia canis and Ehrlichia canis: a hospital population study in south Brazil*. J Vet Intern Med 17:422-423.
8. Dean RS, H. C. (2008). *Use of real-time PCR to detect Mycoplasma haemofelis and "Candidatus Mycoplasma haemominutum" in the saliva and salivary glands of haemoplasma-infected cats*. J Feline Med Surg 10:413-417.
9. Depoix D, C. B.-B. (2002). *Chromosome number, genome size and polymorphism of European and South African isolates of large Babesia parasites that infect dogs*. Parasitology 125:313-321.
10. *Diagnostika und Laborbedarf Beratung · Schulung · Kundendienst*. (s.d.).
11. Dos Santos AP, D. S. (2008). *Hemoplasma infection in HIV-positive patient Brazil*. Emerg Infect Dis 14:1922-1924.

12. Dowers KL, T. S. (2009). *Use of pradofloxacin to treat experimentally induced Mycoplasma haemofelis infection in cats.* Am J Vet Res 70:105-111.
13. DUHAMEL G., D. E. (1984 1989). *Cytologie hématologique, Les cellules pathologiques I et II, Coloration au May-Grünwald Giemsa RAL, Biologiste et Praticien et Réactifs RAL.*
14. Dunn, J. (2014). *Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat.*
15. Dunn, J. M. (2014). *Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat.*
16. Ferreira Sde A, I. L. (2008). . *Evaluation of the conjunctival swab for canine visceral leishmaniasis diagnosis by PCR-hybridization in Minas Gerais State, Brazil.* Vet Parasitol 152:257-263.
17. Foglia Manzillo VF, P. A. (2005). *Papular-like glossitis in a dog with leishmaniosis.* Vet Rec 156:213-215.
18. George JW, R. B. (2002). *Effect of preexisting FeLV infection or FeLV and feline immunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of Haemobartonella felis in cats.* Am J Vet Res 63:1172-1178.
19. Goodman JL, N. C. (1996). *Direct cultivation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis.* N Eng J Med 334:209-215.
20. Greene CE, H. J. (1984). *Canine ehrlichiosis, pp 545-561. In Greene CE (ed): Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat.* WB Saunders, Philadelphia.
21. Guarga JL, M. J. (2000). *Canine leishmaniasis transmission: higher infectivity amongst naturally infected dogs to sand flies is associated with lower proportions of T helper cells.* Res Vet Sci 69:249-253.
22. Hackett TB, L. M. (2003). *Prevalence of Mycoplasma haemofelis and Mycoplasma haemominutum in blood donor cats (abstract).* J Vet Intern Med 17:424-425.
23. Harrus S, A. I. (1997). *Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia.* Vet Rec 141:247-250.

24. Hulme-Moir KL, B. E. (2010). *Use of real-time quantitative polymerase chain reaction to monitor antibiotic therapy in a dog with naturally acquired Mycoplasma haemocanis infection.* J Vet Diagn Invest 22:582-587.
25. Inokuma H, O. M. (2006). *Epidemiological survey of Ehrlichia canis and related species infection in dogs in eastern Sudan.* Ann NY Acad Sci 1078:461-463.
26. Inokuma H, T. S. (2004). *Molecular survey of Mycoplasma haemofelis and Candidatus Mycoplasma haemominutum infection in cats in Yamguchi and surrounding areas.* J Vet Med Sci 66:1017-1020.
27. Iqbal Z, C. W. (1994). *Comparison of PCR with other tests for early diagnosis of canine ehrlichiosis.* J Clin Microbiol 32:1658-1662.
28. Ishibashi T, S. F. (1995). *Subspecies of Babesia canis isolated from dogs in Okinawa Island, Japan.* J Jpn Vet Med Assoc 48:35-37.
29. Itoh N, I. S. (1990). *A case of canine babesiosis possibly developed by transplacental infection.* J Jpn Vet Med Assoc 43:275-276.
30. J, L. (2001). *Activity of amphotericin B in lipid emulsion in the initial treatment of canine leishmaniasis.* J Small Anim Pract 42:170-175.
31. Jafari S, G. S. (1997). *Prevalence of Ehrlichia-canis in dog-population of Shiraz, Fars Province of Iran.* J Appl Anim Res 11:19-23.
32. Jimenez MI, L. F. (1995). *New Leishmania infantum zymodemes responsible for visceral leishmaniasis in patients co-infected with HIV in Spain.* Trans R Soc Trop Med Hyg 89:33.
33. JS, D. (1999). *The ehrlichiosis: an overview.* Infect Dis Rev 1:110-112.
34. JS, D. (1999). *The ehrlichiosis: an overview.* Infect Dis Rev 1:110-112.
35. JW, H. (1990). *In Greene CE (ed): Infectious diseases of the dog and cat, ed 1.* WB Saunders, Philadelphia.

36. Kim HY, M. J. (2002). *Cytokine gene expression by peripheral blood leukocytes in horses experimentally infected with Anaplasma phagocytophila*. Clin Diagn Lab Immunol 9:1079-1084.
37. Koster LS, V. S. (2009). *C-reactive protein in canine babesiosis caused by Babesia rossi and its association with outcome*. J S Afr Vet Assoc 80:87-91.
38. Laberke S, J. F. (2010). *Prevalence of feline haemoplasma infection in cats in southern Bavaria, Germany and infection risk factor*. Munch Tierarzt Wochenschr 123:42-48.
39. Lane RS, F. J. (2001). *Acarologic risk of exposure to emerging tick-borne bacterial pathogens in a semirural community in northern California*. Vector Borne Zoonotic Dis 1:197-210.
40. Mancianti F, P. F. (1996). *Evaluation of dot enzyme-linked immunosorbent assay (DOT-ELISA) for the serodiagnosis of canine leishmaniasis as compared with indirect immunofluorescence assay*. Vet Parasitol 65:1-9.
41. Mauricio IL, H. M. (1999). *Genomic diversity in the Leishmania donovani complex*. Parasitology 119:237-246.
42. McGrotty YL, K. C. (2002). *Oesophageal stricture in a cat due to oral administration of tetracyclines*. J Small Anim Pract 43:221-223.
43. Meinkoth, T. e. (2006). *Guide pratique de cytologie et hématologie du chien et du chat*.
44. Moreno J, A. J. (2002). *Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model*. Trends Parasitol 18:399-405.
45. Moreno J, N. J. (1999). *The immune response and PMBC subsets in canine visceral leishmaniasis before, and after, chemotherapy*. . Vet Immunol Immunopathol 71:181-195.
46. Okada H, T. T. (2001). *Ehrlichial proliferation and acute hepatocellular necrosis in immunocompetent mice experimentally infected with the HF strain of Ehrlichia, closely related to Ehrlichia chaffeensis*. J Comp Pathol 124:165-171.
47. Palacio J, L. F. (1995). *Urinary protein/creatinine ratio in the evaluation of renal failure in canine leishmaniasis*. . Vet Rec 137:567-568.

48. Papadopoulou C, K. A. (2005). *Human and canine leishmaniasis in asymptomatic and symptomatic population in Northwestern Greece*. J Infect 50:53-60.
49. Pretorius AM, V. T. (1999). *Possible human ehrlichiosis in the Free State*. South Afr Med J 89:961.
50. Pusterla N, C. C. (2000). *Serologic and molecular evidence of Ehrlichia spp. in coyotes in California*. J Wildl Dis 36:494-499.
51. S, K. (1977). *Transplacentally acquired microbial and parasitic diseases of dogs*. J Am Vet Med Assoc 171:750-753.
52. S, S. (2007). *the most widespread tick-borne infection in animals in Europe*. Vet Res Commun 31(Suppl 1):79-84.
53. Sanchez-Robert E, A. L.-S. (2008). *Slc11a1 (formerly Nramp1) and susceptibility to canine visceral leishmaniasis*. Vet Res 39:36.
54. Scalone A, d. L. (2002). *Evaluation of the Leishmania recombinant K39 antigen as a diagnostic marker for canine leishmaniasis and validation of a standardized enzyme-linked immunosorbent assay*. Vet Parasitol 104:275-285.
55. Schaer M, M. D. (1985). *A dual infection of Leishmania and Ehrlichia canis in a dog*. Compend Contin Educ Pract Vet 7:531-534.
56. Scorpio DG, A. M. (2004). *CXCR2 blockade influences Anaplasma phagocytophilum propagation but not histopathology in the mouse model of human granulocytic anaplasmosis*. Clin Diagn Lab Immunol 11:963-968.
57. Sepposaari. (2019). *Canine parasites and Parasiticdiseases*. ELSEIVER Ed .2:5-34.
58. Sergent E, S. E. (1912). *La leishmaniose à Alger. Infection simultanée d'un enfant, d'un chien et d'un chat dans la même habitation*. Bull Soc Pathol Exot 5:93-98.
59. Shaw S, K. M. (2001). *Canine granulocytic ehrlichiosis in the UK*. Vet Rec 48:727-728.
60. Shaw SE, B. S. (2005). *Molecular evidence of tick-transmitted infections in dogs and cats in the United Kingdom*. Vet Rec 157:645-648.

61. Sinha BP, G. P. (1986). *Treatment of clinical cases of canine babesiosis*. Indian J Vet Med 6:94-97.
62. Sinha BP, G. P. (1986). *Treatment of clinical cases of canine babesiosis*. Indian J Vet Med 6:94-97.
63. Smith RD, K. I. (1989). *A reappraisal of vector control strategies for babesiosis*. Trans R Soc Trop Med Hyg 83(Suppl):43-52.
64. SR, O. (2005). *canine and felincytology a color atlas and interpretation guide thirid edition*.
65. Sykes JE, D. N. (2007). *Use of conventional and real-time polymerase chain reaction to determine the epidemiology of hemoplasma infections in anemic and nonanemic cats*. J Vet Intern Med 21:685-693.
66. Thomas LD, H. I. (2007). *Human ehrlichiosis in transplant recipients*. Am J Transplant 7:1641-1647.
67. Thrall, M. A. (, 2012). *Veterinary hematology and clinical chemistry*. eds John Wiley & Sons.
68. Wamsley H, B. A. (2007). *Experimental inoculation of dogs with a human or canine isolate of Anaplasma phagocytophilum and molecular evidence of persistent infection following doxycycline therapy*. The 21st Meeting of the American Society for Rickettsiology 2007:38.
69. Welc-Faleciak R, R. A. (2009). *Babesia canis and other tick-borne infections in dogs in Central Poland*. Vet Parasitol 166:191-198.