

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun – Tiaret

Institut des sciences vétérinaires

Département de sante animal

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme
de docteur vétérinaire

*des variation physiologique
de la formule leucocytaire chez le chien, selon l'âge et le sexe*

PRESENTE PAR :

✚ TARFAYA TORKIA
✚ KOURDOURLI WARDIA

ENCADRE PAR :

* Mme.SMAIL FADHILA

ANNEE 2011-2012

Remerciements

Nous remercions le bon dieu qui nous a guidés tout le long de ce chemin a fin de réaliser ce modeste travail.

*Nous remercions **Mme SMAIL FADHILA** d'avoir accepté de nous encadrer, pour sa patience, et ses précieux conseils.*

Nous remercions tout l'enseignant de l'Institut de Science Vétérinaire.

*Nous tenons à remercier particulièrement les responsables et les techniciens de laboratoire de biochimie et hématologie et la clinique des pathologies des carnivores de notre département surtout **Mr .BERRANI AEK**, et **Dr. SLIMANI K.***

En fin, nous remercions tous ceux qui ont su m'aider et tendu leur main, que ce soit de loin ou de prés, pour aboutir à réaliser ce projet de thèse.

DEDICACE

Au nom du dieu le tout puissant et le très miséricordieux par la grâce duquel j'ai pu réaliser mon travail que je dédie à tous ce que j'aime :

- ✚ A mère qui m'a soutenu durant toutes mes études, et m'a comblé de sentiment gentils et chaleureux, je la remercie aussi d'avoir toujours veillée à ce que je ne moque rien,
- ✚ A mon père pour son amour et ces précieux conseils
- ✚ A mes adorables sœurs Fatima, Saliha, Khalida, Halima et ma jolie Hayet.
- ✚ A mes frères Djamel et mon beau Mohamed.et mon petit Mohamed.et AEK.
- ✚ A ma cousine Khadija et ses enfants.
- ✚ A mes amies Torkia, Soumia, Amina, Mokha, Hasna, Fayza, Yassmine..

Liste des abréviations :

EDTA : Ethylène Diamine Titrée Acétique

H : Heure

Mn : Minute

N° : Numéro

% : pourcentage

< : Inférieur

> : Supérieur

FSP : Formule

N : Neutrophile

L : Lymphocyte

M : Monocyte

B : Basophile

E : Eosinophile

MGG : May-Grunwald Giemsa

La liste des tableaux

Tableau N° 01 : Teneur en fibrinogène du plasma de quelques animaux domestiques (mg/ml).....	05
Tableau N° 02 : Taux moyen de sodium dans le sang, le sérum, les hématies de quelque animaux	07
Tableau N°03 : Taux moyen de Potassium dans le sang, le sérum ,les hématies de quelque animaux	08
Tableau N° 04 : Répartition de phosphore dans le sang de quelques animaux	09
Tableau N° 05 : Valeurs usuelles de la formule leucocytaire chez le chien	18
Tableau N° 06 : valeurs quantitatives des différents leucocytes du chien.....	33
Tableau N° 07: Présentation des 19 cas	44
Tableau N° 08: Variation des lignée selon le sexe et l'âge.....	45

LISTE DES PHOTOS

Photo N° 01: Réalisation d'un frottis sanguin.....	20
Photo N° 02: Poikilocytose	22
Photo N° 03: Acanthocytose.....	22
Photo N° 04: Jeune polynucléaire neutrophile	24
Photo N° 05: Cellule de MALLASSEZ.....	41

Sommaire

Liste des abréviations.....	
Liste des tableaux	
Liste des photos.....	
Introduction	02

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : HISTOLOGIE ET PHYSIOLOGIE DU SANG

I. Définition	04
II. Histologie du sang.....	04
A. Composition globale du sang	04
A.1. Le plasma sanguin.....	04
A.1.1. Constituants organiques du plasma	04
A.1.2. Constituants inorganiques du plasma.....	07
A.2. Les éléments figurés du sang	10
A.2.1. Les globules rouges	10
a). La structure des globules rouges.....	10
b). La membrane	11
c). Hémoglobine	11
A.2.2. Les globules blancs.....	12
a). les granulocytes	12
a).1. les granulocytes neutrophiles	12
a).2. les granulocytes éosinophiles.....	12
a).3. les granulocytes basophiles	12
b). Les a granulocytes	13
b).1. les monocytes	13
b).2. les lymphocytes	13
b).2.1. les lymphocytes T	13
b).2.2. les lymphocytes B	13
B. Destruction des tissus sanguins	13
B.1. Production et destruction des globules rouges.....	13
B.2. Production et destruction des leucocytes	15
II. Physiologie du sang.....	15
A. Rôle des globules rouges.....	15
B. Rôle des leucocytes.....	16

C. Rôle des thrombocytes.....	16
-------------------------------	----

Chapitre II.
LES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES

1. Définition de l'hémogramme.....	18
2. Les constantes érythrocytaires.....	18
3. Les réticulocytes.....	19
4. Morphologie et physiologie de cellules sanguines.....	19
4.1. Morphologie et physiologie des hématies.....	20
4.1.1. Morphologie et physiologie des hématies normales.....	20
4.1.2. Modifications des morphologies des hématies.....	21
4.1.2.1. Poikilocytose.....	22
4.1.2.2. Acanthocytes.....	22
4.1.2.3. Sphérocytes.....	23
4.1.2.4. Schizocytes.....	23
4.1.2.5. Annulocytes.....	23
4.2. Morphologie et physiologie des leucocytes.....	23
4.2.1. Morphologie et physiologie des cellules normales.....	23
4.2.1.1. Les polynucléaires.....	23
a).les polynucléaires neutrophiles.....	23
b).les polynucléaires éosinophiles.....	24
c).les polynucléaires basophiles.....	25
d).les lymphocytes.....	25
e). les monocytes.....	26
4.2.2. Modifications morphologiques des leucocytes.....	26
a).Les polynucléaires.....	26

Chapitre III :
ETUDE DE LA FORMULE LEUCOCYTAIRE

I. Valeurs usuelles et variations physiologiques de la numération -formule leucocytaire.....	29
1. Etablissement de la formule et numération leucocytaire.....	29
a). Automates d'hématologie.....	29
a).1.Principe de fonctionnement.....	29
a).2.Avantages et inconvénients.....	30
b). Le frottis sanguin.....	30
b).1.Le principe.....	30
b).2.Réalisation.....	30
b).3.Lecture.....	31
2. Formation et devenir des leucocytes.....	31
2.1. Devenir des granulocytes neutrophiles.....	31
2.2. Devenir des granulocytes éosinophiles.....	31
2.3. Devenir des granulocytes basophiles.....	31
2.4. Devenir des monocytes.....	31
3. Devenir des lymphocytes.....	32

4. Variations quantitatives des leucocytes chez le chien.....	32
4.a).Influence diverses constatées.....	33
4.b).Influence de l'âge	33
4.c).Effet de la gestation et de la lactation.....	34
4.d).formule de stress.....	34
4.e).variation du nombre de granulocytes neutrophiles	35
4.f).variation du nombre de granulocytes éosinophiles et basophiles.....	35
4.g).variation du monocyte	36
4.h).variation du lymphocyte	36

PARTIE EXPERIMENTALE
CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

1. Objectif du travail.....	38
2. Lieu et durée de travail.....	38
3. Matériel et méthodes.....	38
3.1. Matériel	38
3.2. Méthode	39
a) Numération des globules blancs.....	41
b) La coloration MGG (May-Grunwald-Giemsa)	41
b).1.Méthode de coloration	41
b).1.1.Fixation et coloration de May-Grunwald	41
b).1.2.Coloratin de Giemsa	42

Chapitre II :
RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Résultat et discussion des variations physiologiques des paramètres hématologiques	44
II. Répartition des lignées rouges	45

Conclusion générale

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

INTRODUCTION

Chaque cellule dans l'organisme doit recevoir en permanence un apport d'oxygène et de nutriment et de même, chaque cellule doit pouvoir éliminer les déchets qui résultent de son fonctionnement et devant une menace, l'organisme prend un statut de défense c'est le sang qui complète ce rôle.

Mais toute présence d'une anomalie dans le sang provoque un déséquilibre qui conduira à l'apparition de différentes maladies constituent à un véritable défi diagnostique et thérapeutique pour les cliniciens vétérinaires.

Le laboratoire reste le seul moyen pour établir et évaluer les fonctions et les paramètres hématologiques par le bilan hématologique ou hémogramme.

Notre travail consiste dans sa première partie en un bref rappel bibliographique sur le sang et l'hémogramme et leurs variations physiologiques .Dans la deuxième partie , nous réalisons l'analyse de certains paramètres hématologiques ceux qui sont disponibles dans le laboratoire d'hématologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'université de Tiaret et nous établissons l'étude des variations physiologiques de ces paramètres selon l'âge ,le sexe et la race .

En fin nous discutons et décrivons la modification de l'hémogramme selon l'état physiologique , l'âge, le sexe et la race

L'objectif de notre étude est de montrer le rôle du laboratoire d' hématologie dans le diagnostic vétérinaire.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :

Histologie Et Physiologie Du Sang

I. Définition :

Le sang est un tissu conjonctif liquide, plus visqueux, plus pais et plus dense (lourd) que l'eau, il présente environ 7,2 % du poids corporel.

Il est légèrement alcalin, son PH se situant entre 7,35 et 7,45.(**Gérard, 1999**)

Le sang circule dans le système vasculaire de façon continue et régulée par le système cardiovasculaire. (**Binet, 2003**)

La diminution brutale d'un 1 /3 de la masse sanguine peut entraîner un choc mortel. (**Bachir ,1989**)

II. Histologie de sang :**A- Composition globale du sang**

Le sang est formé du plasma sanguin et d'éléments figurés, les globules rouges (érythrocytes) et les globules blancs (leucocytes) ainsi que les plaquettes sanguines (thrombocytes).

A.1.le plasma sanguin : est le liquide dans lequel baignent ces différents éléments cellulaires.Il est composé de 90% d'eau et contient des protéines ,des ions, des enzymes, des minéraux des Oligo-éléments ,des métabolites et des catabolites .Physiologiquement le plasma est jaune , très pâle ,du fait de la présence de bilirubine produite par la dégradation de l'hémoglobine.

A.1.1.Constituants organiques du plasma :**➤ Les protéines plasmatiques :**

les protéines plasmatiques forment un mélange de protides divers, différant les uns des autres par leur structure et par leur rôle .Dans les conditions normales, leur concentration varie dans de faibles proportions mais, dans de nombreuses affections apparaissent des modifications caractéristiques soit de la quantité soit de la proportion des diverses fractions constitutives ; elles peuvent servir au diagnostic et au pronostic.

La proportion des diverses fractions des protides sériques varie selon l'espèce animale ; tandis que, chez l'homme, le taux des albumines est plus élevé que celui des globulines, la relation est inverse chez les animaux de la ferme.

L'analyse à l'électrophotomètre donne des courbes de Gauss correspondant aux diverses fractions et la surface de chaque courbe en cloche sert à déterminer l'importance peut souvent être subdivisée à son tour.

Chez les mammifères adultes, le taux global des protéines plasmatiques varie entre 6et 8%au moment de la naissance, il est d'environ 4% .Après absorption du colostrum, la teneur du plasma en protéines augmente.

Les albumines du sang ont un turn-over très rapide et elles peuvent être fixées par la plupart des organes qui les utilisent pour la synthèse des protéines spécifiques de chacun d'eux ; elles servent donc à couvrir les besoins protéiques des organes. Leur renouvellement s'effectue chaque fois dans le foie .Les sérumbumines ont encore une importante fonction de transport, en particulier pour les acides gras et les pigments biliaires qui sont dans le sang sous forme de complexes liés aux albumines. Les α et β globulines servent au transport des stérols (cholestérol), des stéroïdes (hormones stéroïdes), des phosphatides et des acides gras, c'est pourquoi il y'a une proportion importante de lipoprotéine dans ces deux fractions globuliniques.

Le plasma contient une protéine particulière : le fibrinogène qui est transformé en fibrine au cours de la coagulation du sang. Cette transformation se fait sous l'action d'une enzyme protéolytique : la thrombine qui détache du fibrinogène des fragments polypeptidiques, ceux-ci sont ensuite polymérisés en unités plus volumineuses (fibrine) et se réunissent alors en un réseau fibrillaire dans le quel sont emprisonnés les éléments figurés.

Tableau N⁰ 01: Teneur en fibrinogène du plasma de quelques animaux domestiques (mg/100ml)

Cheval	300(260-350)
Bœuf	600(400-700)
Porc	500(350-650)
Chien	250(150-300)
Mouton	360(250-500)

La teneur normale en fibrinogène montre des variations assez larges selon les espèces et selon les individus car elle dépend de nombreux facteurs. Chez les jeunes les valeurs sont habituellement plus élevées que chez les adultes.

Les protéines du sérum comprennent également de nombreuses enzymes ,libérées dans le sang par les divers organes ;on peut trouver entre autres des hydrolases(estérases ,carbohydrases ,protéases ,désaminases), des transférases (transaminases),des transhydrogénases (acide lactique-déshydrogénase,acide malique-déshydro-génase).

➤ **L'azote résiduel :**

Après précipitation des protides, il reste encore dans le filtrat diverses molécules azotées à bas poids moléculaire réunies sous le vocable commun d'azote résiduel. La détermination de cet azote résiduel se fait après précipitation des protides par l'acide trichloracétique. La teneur du sérum en azote résiduel dépend de l'alimentation ; elle augmente légèrement après ingestion d'aliments riches en protéines par suite de l'élévation du taux des aminoacides libres. Chez les mammifères, Le azote résiduel vient pour plus de 50% de l'urée et ensuite de la créatine, de la créatinine, de l'acide urique, des acides aminés libres, de l'allantoïne et de diverses substances azotées.

➤ **Les glucides :**

Les glucides restant dans le sang après élimination des protides constituent le « sucre sanguin » dont l'élément principal est le glucose. Mais, à coté de ce « sucre libre » du sang, existent aussi des oses liés aux protéines plasmatiques (glucose, mannose, galactose) ; il faut donc avoir soin de préciser la méthode de dosage utilisée lorsqu'on donne des valeurs relatives au taux des glucides dans le sang. Dans les anciens procédés, on dosait non seulement le sucre sanguin mais d'autres corps réducteurs responsables d'une « réduction résiduelle ». Celle-ci est due en premier lieu à la présence de glutathion, d'acide ascorbique et d'acide glycuronique. Les procédés actuels permettent de déterminer le taux réel des hexoses du sang (glucose véritable).

➤ **Les lipides :**

La majeure partie des lipides du sang est représentée par des glycérides, du cholestérol et des phosphatines ; une partie des lipides est liée aux protides (lipoprotéines). Divers lipides

complexes du plasma servent au transport des acides gras. La prise des repas influe de façon nette sur la lipidémie.

➤ **Pigments :**

Les principaux pigments du plasma sont les pigments biliaires et les carotènes ; leur concentration varie avec l'espèce animale. La bilirubine est le principale représentant des pigments biliaires du plasma ; une partie donne directement la diazoreaction d'Ehrlich (bilirubine directe) .Le reste nécessite l'addition d'alcool ou de caféine . . . (bilirubine indirecte) Le taux de bilirubine augmente dans diverses affections hépatiques et dans l'ictère hémolytique.

➤ **Vitamines et hormones :**

Par des méthodes très sensibles, on a pu identifier presque toutes les vitamines dans le sang des animaux domestiques mais à des concentrations très faibles. La teneur du plasma en une vitamine donnée diminue fortement lors de carence en cet élément.

Des même des méthodes d'identification sensibles permettent de retrouver presque toute les hormones dans le sang et même de les doser dans une certaine mesure.

A.1.2. Constituants inorganiques du plasma :

a) Cations :

Le nombre des cations est en général un peu plus élevé que celui des anions et il en résulte en bilan une réaction faiblement alcaline du plasma. Parmi les cations, le sodium occupe la première place; potassium, calcium et magnésium sont à un taux notablement plus faible. Il y a des différences considérables dans la répartition des ions entre les globules rouges et le plasma

Tableau N⁰ 02: Taux moyen du sodium dans le sang, le sérum et les hématies de quelques animaux (mg/100 ml)

	Sang	Sérum	Hématies
Cheval	200	320	55
Bœuf	260	325	170
Mouton	280	330	205
Chèvre	250	320	120
Porc	215	335	25
Chien	310	330	300
Poule	245	315	60

Le rapport entre le sodium extracellulaire et le sodium intracellulaire est assez constant pendant la vie. Le tableau 02 montre que la teneur des hématies en sodium est très différente selon les espèces.

Le taux du potassium dans le sérum des animaux domestiques ne varie que dans des limites très étroites ; celui du sang au contraire diffère beaucoup d'une espèce à l'autre par suite de la teneur des hématies.

Tableau N° 03 : Taux moyen du potassium dans le sang, le sérum et les hématies de quelques animaux (mg/100 ml)

	Sang	Sérum	Hématies
Cheval	173	18	360
Bœuf	40	17	80
Mouton	35	18	80
Chèvre	85	18	200
Porc	170	20	370
Chien	28	20	33
Poule	190	22	390

Le calcium du sérum comprend une fraction dialysable, représentant environ 50-60% de la quantité totale et essentiellement constituée d'ion calcium, et une fraction non diffusible, en grande partie liée aux protéines. Les ions calciques représentent la forme active du point de vue physiologique.

b) Anion :

Parmi les anions, l'ion chlore occupe la première place ; les bicarbonates, phosphates, sulfates et les protéines sont d'autres anions importants. Des quantités importantes de chlorures sont retirés du sang au cours de la sécrétion de l'acide chlorhydrique par la muqueuse gastrique.

La teneur du sang en phosphate inorganique est assez faible et comprise entre 2-4% , chez les sujets en croissance elle est un peu plus élevée (3-5mg%). Avec une ration carencée en acide phosphorique, la phosphatémie tombe en général au-dessous de 2mg%

Le sang contient en outre de nombreuses molécules organiques phosphorées. Réparties aussi bien dans les cellules sanguines que dans le plasma ,

Le phosphore comprend surtout les phosphatines et la sphingomyéline ; le phosphore acide-soluble correspond aux molécules phosphorées à bas poids moléculaire comme les nucléotides (ATP), la phosphocréatine et les esters phosphoriques (hexose-phosphates, trios-phosphate)

Tableau N°04 : Répartition du phosphore dans le sang de quelques animaux (mg/100ml)

	Cheval	Bœuf	Mouton	Porc	Chien	Poule
P totale	27	18	17	21	43	91
P lipoïdique	8,0	9,5	9,2	11,5	14	9,2
P nucléique	0,6	-	-	-	3,6	47,4
P inorganique	1,8	5	5	5,4	3,2	3,2

La teneur du sérum des animaux domestiques en sulfates est en moyenne de 1-2mg%. Le taux du *soufre* total dans le sang est par contre beaucoup plus élevé et atteint environ 100-200mg % ,car la majeure partie de ce soufre se trouve dans les molécules protidiques. Les globules rouges sont très riches en glutathion.

c) Oligo-éléments :

❖ Fer :

Le fer est l'oligo-élément quantitativement le plus important dans le plasma des animaux domestiques ; il est lié à une protéine, la transferrine (sidérophiline) . En général ,la protéine ,n'est saturée qu'à 30-40%de son pouvoir de fixation du fer .Le fer du sérum sanguin est une forme de transport de cet élément depuis son lieu d'absorption(intestin grêle)ou de stockage (foie rate) jusqu'à son lieu d'utilisation (essentiellement moelle osseuse ,mais aussi toutes les cellules de l'organisme).En cas de carence en fer ,on observe une diminution de la concentration du fer dans le sérum et une réduction de l'érythropoïèse(anémie ferriprive)

❖ Cuivre :

L'alimentation est le facteur qui influe le plus dans la teneur du sérum sanguin en cuivre ;après l'ingestion d'aliment riche en cuivre , elle reste assez élevée pendant plusieurs heures. Le foie assure la régulation de la teneur en cuivre ; en cas de diminution de cette teneur, les réserves hépatiques de cuivre sont mobilisées.

❖ Zinc :

Dans le sérum, le zinc est lié aux protéides ; dans les hématies, il est avant tout sous forme de constituant de l'anhydride carbonique.

❖ Cobalt, Manganèse, Iode :

La teneur du sang en cobalt, manganèse et iode est très basse et ne peut être déterminée qu'à l'aide des méthodes très sensibles. Les valeurs moyennes données pour la teneur du sérum des animaux domestiques sont 2-10 % pour le manganèse et 0,5-5 % pour le cobalt : dans le sérum, ces deux éléments sont en transit depuis leur absorption ou leur stockage jusqu'au lieu de leur utilisation.

L'iode se trouve dans le sérum sous forme d'iodure ou d'iode lié aux protéides. L'iode minéral représente la forme de transport, l'iode protéidique correspond à l'hormone thyroïdienne. La teneur du plasma en iode total est de 4-8 %.

A.2. Les éléments figurés :

Chez la plupart des organismes, les éléments figurés du sang sont des cellules qui entrent dans la catégorie des érythrocytes et qui sont également appelés globules rouges. Ils doivent leur couleur rouge au pigment respiratoire coloré qu'ils contiennent, l'hémoglobine. Les leucocytes, cellules incolores, sont également appelés globules blancs.

A.2.1. Les globules rouges :**➤ La structure du globule rouge**

Les érythrocytes sont nommés : Globules rouges ou hématies, leur nombre varie entre 5,5 à 8,5 million /mm³. (Stéphanie, 2002)

Les globules rouges apparaissent comme des cellules anucléées de 7 à 9 µm de diamètre chez les mammifères, les GR sont dépourvus de noyau mais chez les autres espèces vertébrés (poissons, amphibiens, reptiles et oiseaux), ils ont un noyau.

Le GR peut être schématiquement représenté comme un sac contenant de l'hémoglobine, le pigment responsable de la fonction de l'hémoglobine et des enzymes protecteurs de l'Hb et de la membrane contre l'oxydation 60% d'eau ; Hb = 92% du poids sec.

Et d'autres électrolytes telles que : potassium, sodium, chlore et aussi le glucose.

➤ **La membrane :**

Constituée de :

- Lipides= 42% (65% de phospholipides, 23% de cholestérol ,12% d'acides gras) formants une double couche
- Glucides=8% (constituent la partie Oligo-saccharidique des glycoprotéines et des glucolipides).
- Protéines=50%

Protéines extrinsèques transmembranaires assurant la transmission des messages de l'extérieur vers l'intérieur (à la face interne =la plu part des protéines forme le cytosquelette du globule rouge, et à la face externe principalement des récepteurs, surtout la protéine bande 3 et la glucophorineA). (**Hennen ,1996**)

Les protéines du cytosquelette sont essentiellement la spectrine (alpha, bêta) qui permet le maintien de la structure du GR (lorsqu'elle est sous sa forme tétraédrique), et la protéine 4.1 dont le rôle est de faciliter la liaison entre la spectrine et l'actine.

L'ankyrine (protéine d'ancrage) a pour rôle de rattacher le squelette membranaire au reste de la membrane (entre la chaîne bêta de la spectrine et la protéine bande 3).(**Bachy , 2006**)

Sur la membrane des globules rouges existe de très nombreux antigènes à la surface, mais ils n'ont pas tous la même capacité d'entraîner une réponse immunitaire, certains doivent être toujours pris en considération (antigènes des groupes sanguins, rhésus). (**Traineau ,1995**)

➤ **Hémoglobine :**

L'élément principal dans les érythrocytes est l'hémoglobine qui est composé de deux parties :

Une partie protéique : la globine, et une structure cyclique organique complexe comportant un groupement prosthétique : l'hème qui est formé par la protoporphyrine, à la quelle est liée un atome de fer à l'état ferreux.La protoporphyrine est constituée par quatre noyaux pyrroles unis par les ponts méthyles. Le fer en position centrale de l'hème lié aux quatre atomes du noyau protoporphyrinique et forme deux autres liaisons d'azote de part et l'autre du plan de l'hème : L'une avec l'O₂, qui ne peut se lier que si le fer est à l'état ferreux (lorsque le fer est

à l'état ferrique=méthémoglobine qui est incapable de fixer l'O₂) L'autre avec une chaîne polypeptidique de globine. Chaque complexe hème +globine forme une sous unité : les quatre sous- unités s'adaptent les unes aux autres pour former un tétraèdre, la molécule d'hémoglobine. (Bachy, 2006)

A.2.2.Les globules blancs :

Leur nombre entre 6000à12000 par mm³, les leucocytes ou les globules blancs sont classées en : les granulocytes et les a granulocytes. (François, 2008)

a)Les granulocytes :

Sont appelés polynucléaires, sont caractérisés par un noyau polylobé et la présence des granules cytoplasmiques particuliers, ceux-ci peuvent appartenir à trois variétés :

Les granulocytes neutrophiles.

Les granulocytes éosinophiles.

Les granulocytes basophiles. (Grassé, 1972)

- **Les granulocytes neutrophiles :**

Il mesure 10à12µm, il est défini par la forme de son noyau qui est segmentée en plusieurs lobes de (3-5µm), leur cytoplasme contient de nombreuses granulations donnant la coloration neutrophile. (Sultan et al, 1978)

- **Les granulocytes éosinophiles :**

Ils mesurent 14 µm de diamètre, leur noyau possède deux lobes , le cytoplasme renferme de nombreuses et de volumineuses granulations orangées (Sultan et al,1978) Leur durée de vie est de 4à5 heures.(Choquet et al,2002)

- **Les granulocytes basophiles :**

Sont des cellules arrondies de 11 µm de diamètre possédant un noyau irrégulier, peu segmenté, caractérisé par de volumineuses granulations. (Sultan et al ,1978)

Leur durée de vie est de 3à4jours. (Choquet et al ,2002)

b) Les a granulocytes :

Ils comprennent les lymphocytes et les monocytes qui sont tous dépourvus de granulations cytoplasmiques visibles. (Marie, 1993)

- **Les monocytes :**

Des cellules mononuclées, 0,05 % des leucocytes, est la plus grande des cellules sanguines avec une taille supérieure à 15 μm , noyau généralement détaché des bords ; allongé, réniforme souvent encoché en forme de **E** majuscule, pas de nucléole. (François, 2008)
Leur durée de vie est de 68 jours. (Choquet et al, 2002)

- **Les lymphocytes :**

Ils sont les plus nombreuses après les granulocytes neutrophiles, malgré cette abondance, une faible proportion seulement de leur population se trouve dans la circulation sanguine, on a deux types de lymphocytes : les lymphocytes **T**, les lymphocytes **B**. (Marie, 1993)

1. **Les lymphocytes T :**

Sont impliqués dans l'immunité à médiation cellulaire transmissible par les cellules lymphoïdes et comprenant l'immunité cellulaire vis-à-vis d'agents bactériens ou viraux, la réaction d'hypersensibilité retardée. (al, 2002)

2. **Les lymphocytes B :**

Les lymphocytes **B** assurent l'immunité humorale due à la présence d'anticorps spécifique et transférables, chez un individu vierge de toute immunisation, par le sérum du sujet immunisé, l'immunité humorale est à la base des réactions d'hypersensibilité immédiate (Bergret, 2002).

B). Destruction des tissus sanguins :**B).1. Production et destruction des globules rouges :**

Les globules rouges ont une durée de vie limitée et doivent donc être continuellement renouvelés. Chez les mammifères, leur durée de vie est de 50 à 120 jours. Dans la moelle osseuse, des quantités importantes de globules rouges doivent être continuellement formées. Les processus de formation des cellules sanguines constituent l'hématopoïèse ; ceux des globules rouges constituent l'érythroïèse.

Dans les premiers stades de la vie embryonnaire, l'érythropoïèse se fait dans les vaisseaux de la vésicule vitelline. Les érythrocytes sont nucléés mais déjà pourvus d'hémoglobine. Très tôt commence la production des hématies anucléés dans le foie à partir du 3^{ème} mois, l'activité érythro-formatrice de la moelle osseuse devient de plus en plus forte, et dans le dernier tiers de la vie fœtale, la moelle osseuse est le lieu principal de la synthèse des globules rouges. Après la naissance, les globules rouges sont formés exclusivement dans la moelle osseuse.

Au cours de la maturation des érythroblastes dans la moelle osseuse, leur basophilie diminue progressivement et fait place à une acidophilie du cytoplasme ; le noyau subit la lyse (caryotype). Les globules rouges très jeunes contiennent encore des traces de matériel basophile dans leur cytoplasme, sous forme d'un réticulum ; ils portent le nom de réticulocytes et représentent normalement 0,5-1,5 % des globules rouges. Après des pertes sanguines importantes ou au cours du séjour des animaux en altitude (alpage), le nombre des réticulocytes par suite d'une libération accrue d'éléments immatures par la moelle osseuse. L'activité hématopoïèse de la moelle osseuse possède un grand pouvoir d'adaptation ; en cas de besoin, elle peut produire en un peu de temps plusieurs fois son propre poids de cellules sanguines. Il y a normalement un équilibre entre l'élaboration et la destruction des globules rouges et ainsi leur nombre reste assez constant et ne varie que dans des limites physiologiques bien définies.

Une alimentation de bonne qualité est la condition pour que la production des hématies soit suffisante ; il est en particulier essentiel que le sujet reçoive un apport suffisant de protéines, de diverses vitamines et de matières minérales.

La dégradation des globules rouges se déroule dans le système réticulo-endothélial (SRE), en particulier dans la rate, la moelle osseuse et le foie. Par suite des nombreux frottements que subit l'hématie au cours de son circuit dans l'appareil circulatoire, sa membrane devient de plus en plus fragile et la cellule peut prendre des formes anormales (poikilocytose) ; ces hématies sénescents et polymorphes sont particulièrement abondantes dans certaines myélopathies. Finalement, les hématies sont détruites essentiellement dans les mailles du réticulum de la pulpe rouge de la rate.

L'hémoglobine est décomposée et la bilirubine formée au cours de cette dégradation est ensuite transportée des cellules du SRE au foie ; les pigments biliaires seront finalement excrétés avec la bile dans l'intestin grêle ou ils subissent des transformations. Par exemple, réduction et clivage. Le fer libéré au cours de ces processus est couplé à une protéine

spécifique, l'apoferritine et mis en réserve sous forme de ferritine ; il sera facilement mobilisé au fur et à mesure des besoins de l'organisme. Dans les conditions normales, la ferritine est à une forte concentration dans la moelle osseuse, la rate, le foie et la muqueuse de l'intestin grêle.

B).2.La production et la destruction des leucocytes :

Sont continues et très actives. La durée de vie de ces éléments est beaucoup plus courte que celle des hématies : 8-10 jours au maximum pour les granulocytes. En raison de cette brièveté de vie des granulocytes, le tissu myéloïde de la moelle osseuse est proportionnellement plus important que le tissu érythropoïétique.

Il existe diverses formes de lymphocytes. Les lymphocytes à vie courte se forment dans les ganglions lymphatiques, dans la rate et la moelle osseuse ; leur durée de vie n'est que de quelques jours. Les lymphocytes à vie longue se forment dans le thymus et dans la moelle osseuse ; leur temps de vie va de quelques mois à des années. On trouve chez le rat un équipement d'environ $1,5 \times 10^6$ lymphocytes à vie longue, qui ont la faculté de faire des anticorps.

Dans les ganglions lymphatiques, les lymphocytes à vie longue abandonnent en partie les capillaires sanguins. Chez le rat environ 4×10^6 lymphocytes traversent chaque heure les ganglions lymphatiques. En cas de contact avec un antigène (lors d'infections ou d'administration par voie parentérale), celui-ci est pris en charge par quelques lymphocytes immunocompétents, ce qui provoque une division et une différenciation des lymphocytes en cellules plasmiques formatrices d'anticorps. Les récepteurs d'antigènes se situent à la surface des lymphocytes. L'action d'un antigène provoque une augmentation de la synthèse de RNA et de protéines.

II. Physiologie du sang :

a). Rôle des globules rouges

Les hématies ou globules rouges du sang contiennent l'hémoglobine, qui permet de fixer l'oxygène au niveau des poumons et le transporter vers les tissus, et fixer le CO_2 au niveau des tissus et le transporter vers le poumon. **(Laurent et al, 2002).**

Le transport de complexes immuns grâce au CD20 (une molécule présente à la surface des hématies qui fixe les complexes immuns et permet de les déplacer). **(Chekourie, 1999)**

La forme biconcave est la morphologie l'apte à la déformabilité : les GR passent dans des capillaires de 3 μm de diamètre.

Quant le GR s'écarte de la forme biconcave, il devient fragile, moins souple, ne circule plus dans les petits capillaires et s'hémolyse.

La charge négative de la membrane permet d'éviter l'agglutination des hématies.

La membrane permet l'entrée du glucose dans le GR par diffusion passive. Une pompe ATP ase Na^+K^+ dépendance assure le transport actif des cations et maintient la composition du globule rouge en cation. Leur durée de vie est de 110 à 120 jours. (**Grassé ,1972**)

b).Le rôle des leucocytes :

Le rôle des leucocytes est :

- Les différents leucocytes jouent un rôle très important dans la lutte (La réponse immunitaire).
- Les granulocytes phagocytent et détruisent la plu part des microbes pathogènes.
- Les monocytes et les macrophages jouent un rôle essentiel, la cyto toxication soit par contact direct avec la cible et sécrétion de toxique, soit par phagocytose.
- Les lymphocytes jouent un rôle très important dans l'élaboration d'anticorps. (**Pierre ,1972**)

c) .Le rôle des thrombocytes :

Les plaquettes jouent un rôle essentiel dans la coagulation, et dans la formation de bouchon temporaire qui contribue à colmater la brèche.

La cicatrisation (stimulation de la prolifération des fibres musculaires lisses), est de 08 jours. (**Maried, 1993**)

Chapitre II.

Les Paramètres Hématologiques

1. Définition de l'hémogramme :

L'hémogramme est l'ensemble des données mesurées et calculées concernant les

Hématies, les leucocytes et les plaquettes.

Les valeurs usuelles sont spécifiques de l'espèce, de l'âge et du sexe :

Tableau N°05 : Valeurs usuelles de la formule leucocytaire chez le chien

	NBRE GR($10^6/\text{mm}^3$)	HEMATOCRITE L/L OU %	NBRE GB $10^9/\text{L}$	NBRE PLQ $10^9/\text{L}$
CHIEN	5,5-8,5	37,0-55,0	6,0-17,0	150-500

Certains caniches présentent physiologiquement une macrocyte avec un volume moyen des hématies autour de 80 fl.

Chez le nouveau-né, le nombre des hématies, le VGM, l'hématocrite, sont plus élevés que chez l'adulte. Ces paramètres atteignent les valeurs usuelles de l'adulte vers l'âge de 3 mois chez le chien.

Chez la femelle gestante, le nombre d'hématies, l'hématocrite diminuent progressivement jusqu'à la mise-bas sous l'effet de l'hémodilution (augmentation du volume plasmatique liée au placenta) puis remontent quelques semaines après dans l'intervalle de valeurs usuelles.

Il existe trois grandes catégories d'automates d'hématologies permettant de dénombrer les différentes catégories de cellules sanguines :

- Les compteurs de type Coulter.
- Les systèmes QBC (Quantitative Buffy Coat).
- Les cytomètres de flux.

2. Les constantes érythrocytaires :

Les constantes érythrocytaires précisent les caractéristiques des hématies et permettent de classer les anémies :

- **V.G.M** : Volume Globulaire Moyen, exprimé en femto litre (fl). Il est mesuré par l'automate. Lorsqu'il est élevé, on parle de macrocytes, lorsqu'il est bas de microcytes et lorsqu'il est dans les valeurs usuelles, de normocytose.

- **C.C.M.H** : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine, exprimée en g/dl, est une valeur calculée en divisant l'hémoglobinémie par l'hématocrite ($\text{CCMH} = \text{Hb}/\text{Ht}$). C'est un paramètre très important pour définir une anémie.

- Si la CCMH est normale, on parle d'anémie normo chrome.
- Si la CCMH est basse, on parle d'anémie hypochrome.
- Si la CCMH est augmentée, il s'agit soit d'un artéfact, généralement une surévaluation de l'hémoglobine du fait d'une hémolyse ou d'un échantillon lipémique, soit une déshydratation intracellulaire liée à un excès d'anticoagulant(EDTA) par rapport à la quantité de sang, soit à un plasma hyper osmotique (ex : administration de composés hypertonique par perfusion)

-**T.C.M.H** : Taux Corpusculaire Moyen en Hémoglobine, exprimé en picogramme (pg), est calculé en divisant l'hémoglobine par le nombre d'hématie ($TCMH = Hb / Nbre\ GR$). Il est moins intéressant que le CCMH car il ne tient pas compte du volume des hématies.

3. Les réticulocytes :

Les réticulocytes sont de jeunes hématies, plus volumineuses et un peu plus basophiles à la coloration de May-Grunwald Giemsa, que les globules rouges matures.

Les réticulocytes présentent des résidus de ARN cytoplasmique qui peuvent être mis en évidence par une coloration au Bleu de Crésyl Brillant et apparaissent sous forme de réseaux bleus foncés. La maturation des réticulocytes en hématies se fait en 24 à 48 heures au sein du parenchyme splénique. La proportion de réticulocytes va permettre de caractériser les anémies ; régénératives ou a régénératives.

Il faut toujours tenir compte du nombre de réticulocytes par unité de volume sanguin et non du pourcentage de réticulocytes.

Chez le chien, seuls les réticulocytes réticulés sont présents ,l'anémie est dite régénérative si le nombre de réticulocytes est supérieur à $100\ 000/mm^3$.

4-Morphologie et physiologie des cellules sanguines :

Le frottis sanguin est indispensable et doit être systématiquement réalisé en plus de l'hémogramme.

Il permet :

- De vérifier les valeurs des numérations érythrocytaires, leucocytaires et plaquettaires fournies par celui-ci.
- De mettre en évidence d'éventuels parasites sanguins.
- De réaliser un examen morphologique des hématies et des leucocytes

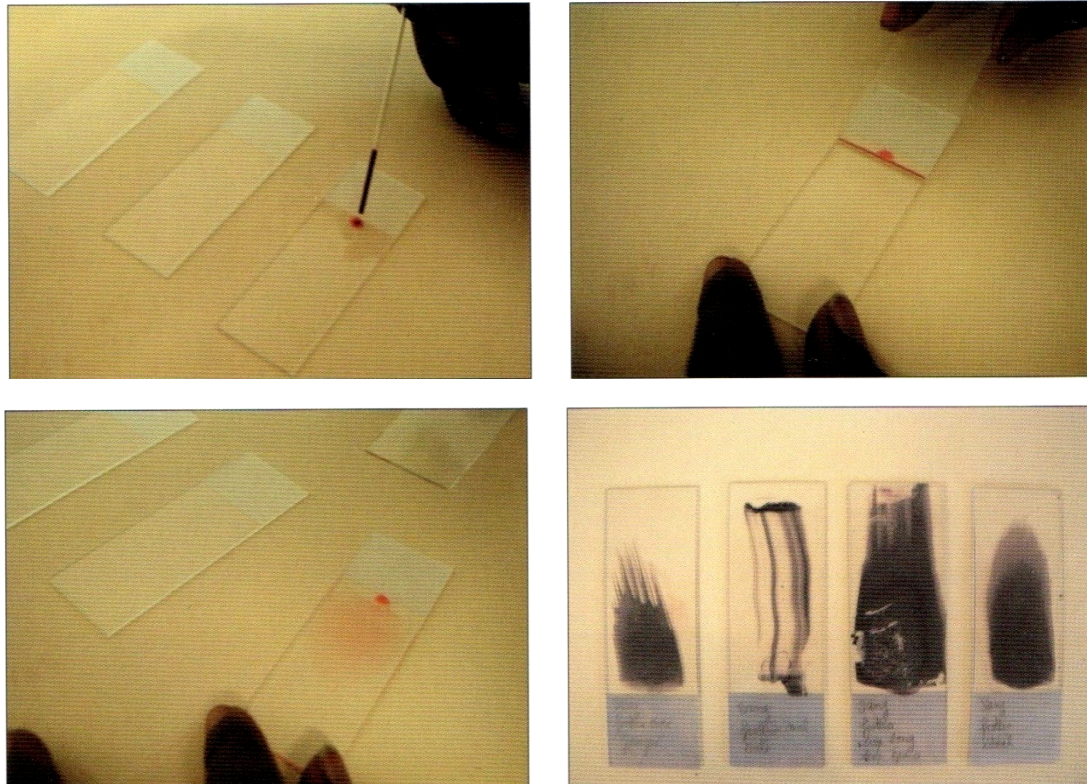


Photo N° 01 : Réalisation d'un frottis sanguin

Le frottis sanguin est une monocouche d'hématies et de leucocytes à bord réguliers. Le comptage manuel des leucocytes, ainsi que l'appréciation de la morphologie des hématies, se font dans le dernier tiers du frottis. L'examen de la morphologie des globules blancs ainsi que la recherche des parasites se font en queue de frottis.

Lorsque le sang est mal étalé, le frottis est trop épais, les hématies se chevauchent, les caractéristiques cytonucléaires des leucocytes ne peuvent être distinguées et les anomalies morphologiques peuvent passer inaperçues.

Il faut toujours tenir compte du nombre de réticulocytes par unité de volume sanguin et non du pourcentage de réticulocyte.

➤ **Morphologie et physiologie des hématies :**

❖ **Morphologie et physiologie des hématies normales :**

Sur un frottis sanguin normal, les hématies ont une taille, un contour et une coloration homogènes. Elles ont des particularités variables en fonction de l'espèce. Ainsi, les hématies des carnivores domestiques, sont anucléées, rondes et de tailles variables mais homogènes au sein d'une même espèce.

La proportion des différentes catégories de lipides et de protéines au sein de la membrane plasmique de l'hématie va influencer très nettement sa déformabilité. Ainsi, une certaine

proportion de cholestérol est présente dans la bicouche lipidique qui compose la membrane plasmique des hématies. Toute variation dans ses proportions va modifier les propriétés mécaniques de la membrane et réduit la durée de vie de l'hématie.

Le rôle des hématies est de transporter l'hémoglobine qui permet l'oxygénation tissulaire. Chaque molécule d'hémoglobine est constituée de quatre hèmes associés chacun à une molécule de globine. L'hème est composé d'un noyau porphyrique, au centre duquel est placé un ion ferreux Fe^{2+} .

Chaque hématie contient entre 250 et 400 millions de molécules d'hémoglobine. Chez le chien, l'hémoglobine occupe environ un tiers du volume de l'hématie.

Lorsque les hématies vieillissent ou qu'elles sont anormales, elles sont phagocytées dans la rate par les cellules macrophagiques. Le fer et les globines contenus dans l'hème de l'hémoglobine sont récupérés et réutilisés par l'organisme pour la synthèse de nouvelles hématies. Le noyau porphyrique est dégradé en biliverdine, qui est transformée en bilirubine. Celle-ci est libérée dans le sang, conjuguée lors de son passage hépatique, puis excrétée par voie biliaire. Dans l'intestin, la bilirubine se transforme en urobilinogène éliminé dans les fèces. Une partie de l'urobilinogène et de la bilirubine conjuguée est toute fois réabsorbée, repasse dans la circulation générale, est filtrée par le rein et éliminée dans l'urine.

Lors d'hémolyse aigue ou d'hépatopathie, la bilirubinémie augmente et colore le plasma en jaune, entraînant un ictère.

❖ Modifications morphologiques des hématies :

Lorsqu'il existe des différences de morphologie entre les hématies, on parle de poikilocytose. Ce terme est générique, et pour désigner plus précisément la nature de cette hétérogénéité morphologique et éventuellement la rattacher à des mécanismes physiopathologiques spécifiques, les hématies anormales ont été classées en fonction de leurs caractéristiques.

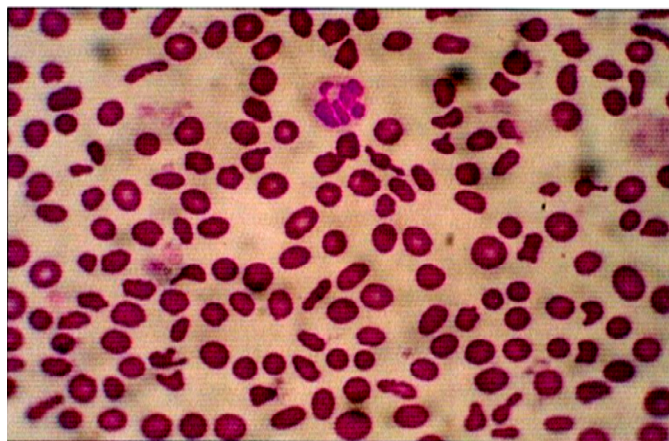


Photo N°02 : Poikilocytose

- Acanthocytes :

Hématies dont le contour est déformé en « doigt de gant », conséquence d'un défaut quantitatif ou qualitatif en lipides spécifiques de la bicouche membranaire. Généralement, on les observe lors d'hépatopathies (dont le shunt porto-systémique), d'hémangiome ou d'hémangiosarcome splénique, de malabsorption digestive.

Ces acanthocytes ne doivent pas être confondus avec les échinocytes, hématies en forme « d'oursin » issues d'une déshydratation globulaire très souvent artéfactuelle lors de la préparation du frottis sanguin (choc osmotique lors de la fixation du frottis à l'alcool, séchage trop énergétique ou exposition à une source de chaleur trop importante) mais pouvant aussi être observés lors de chimiothérapie (doxorubicine), d'ulcère ou de tumeur gastrique, de glomérulonéphrite.

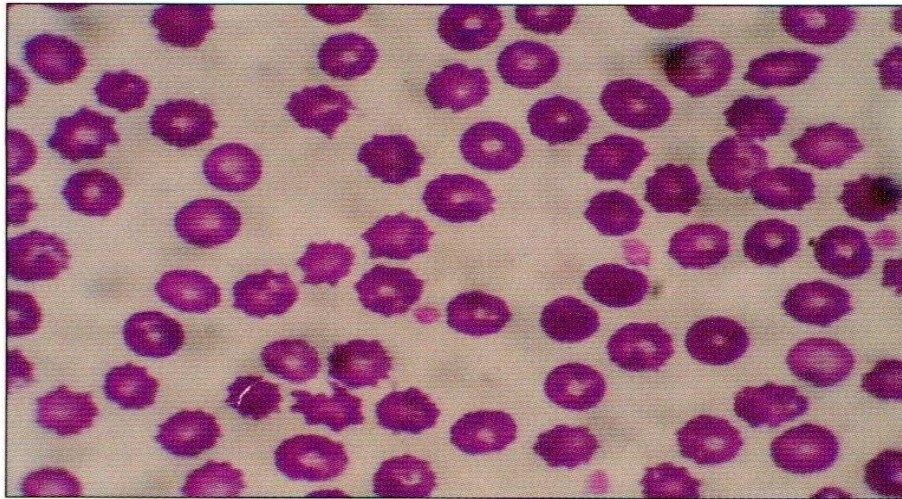


Photo N° 03 : Acanthocytose

- Sphéricités :

Hématies dont une partie de la membrane a été éliminée par le système des phagocytes mononucléés. Le globule rouge formé perd alors sa forme biconcave classique pour devenir sphérique, plus petit en coupe sur le frottis sanguin et de contenu plus dense. Ils sont observés lors d'anémie hémolytique à médiation immune, ou après une transfusion sanguine.

- Schizocytes :

Fragment d'hématies de taille et de forme très hétérogènes, issus du passage brutal et de la destruction mécanique des globules rouges dans des capillaires de petite taille. On les retrouve lors de micro angiopathies glomérulaire, hépatiques, spléniques, de cardiopathies congestives, de chimiothérapie, de néo vascularisation tumorale.

- Annulocytes :

Hématies dont le centre est très pâle et le contour un peu plus coloré. Cette pâleur générale, et en particulier centrale, est liée à un défaut de contenu cytoplasmique en hémoglobine. On l'observe particulièrement dans les anémies ferriprives. Ces annulocytes ne doivent pas être confondus avec les trachytes, hématies présentant une pâleur centrale mais une hyperchromasie du pourtour de l'hématie liée à une concentration de l'hémoglobine dans la partie périphérique du cytoplasme.

➤ **Morphologie et physiologie des leucocytes :**

❖ **Morphologie et physiologie de cellules normales :**

- Les polynucléaires :

Les polynucléaires neutrophiles (PNN) :

Sont des cellules rondes, de taille comprise entre 10 et 15 microns, à cytoplasme abondant et clair, à noyau polylobé. La chromatine est uniformément dense, colorée en bleu-violet profond au May-Grunwald-Giemsa. Contrairement à ceux de l'homme et de primats les neutrophiles des carnivores domestiques ne présentent pas de granulations cytoplasmiques aux colorations usuelles (MGGetRAL)

Chez 1 à 7% des PNN de la chienne et 4 à 11 % des PNN de la chatte, des diverticules particuliers du noyau peuvent être observés, appelés corps de Barr ou drumstick (du fait de leur forme en baguette de tambour), ils sont exceptionnellement observés chez les males.

Le nombre de lobe du noyau des PNN est un indice de maturation : Les jeunes PNN ont un noyau peu lobé et sont observés lors d'infection ou inflammation aigüe, tandis que les vieux PNN ont plus de 4-5 lobes et sont observés lors d'urémie, d'inflammation chronique, de corticothérapie longue durée.

Les polynucléaires neutrophiles sont divisés en deux compartiment fonctionnels : le pool circulant , constitue des PNN présents dans les vaisseaux sanguin , et le pool marginé, constitue des PNN accrochés à la paroi des vaisseaux sanguins , en particulier ceux de la rate ,des poumons et des intestins qui représentent de véritables réservoirs de PNN .Le stress (adrénaline) et les glucocorticoïdes (endogènes ou exogènes) vont favoriser la d'émargination des PNN et provoquer ainsi une neutrophile sanguin .En moyenne , les PNN restent une dizaine d'heure dans le sang circulant. Ils passent ensuite dans les tissus ou ils vont avoir un rôle de défense contre les microorganismes.

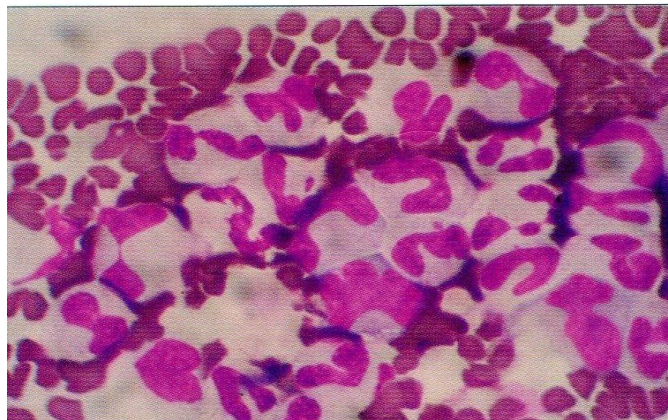


Photo N° 04 : Jeune polynucléaire neutrophile

✓ ***Les polynucléaires éosinophiles (PNE) :***

Ont le même aspect général que les neutrophiles, mais leur noyau est globalement moins lobé (souvent bilobé), leur taille légèrement supérieure, et ils contiennent dans le cytoplasme de nombreuses granulations orangées. Ces granulations caractéristiques sont rondes et de taille hétérogène chez le chien, Les granulations des PNE renferment des substances oxydantes très puissantes, qui permettent la destruction des microorganismes, notamment des bactéries et des protozoaires.

✓ ***Les polynucléaires basophiles :***

Ont un noyau polylobé mais présentent des granulations cytoplasmique très différentes en fonction de l'espèce. Chez le chien, les PNB sont rares et contiennent quelque petites granulations cytoplasmiques très basophiles.

✓ ***Les lymphocytes :***

Les lymphocytes sont des cellules rondes, de taille comprise entre 7 microns pour les petits lymphocytes et 12 microns environ pour les grands lymphocytes, présentant un noyau rond parfois encoché, une chromatine dense donnant un aspect dit « lapé » au noyau. Le cytoplasme,

clair, est très réduit dans le cas des petits lymphocytes, qui sont plus souvent observés chez le chien.

Les lymphocytes sont produits à la fois dans la moelle osseuse hématopoïétique et dans les organes lymphoïdes (nœuds lymphatiques, rate, et plaque de Peyer de l'appareil digestif). Il existe deux grandes catégories de cellules lymphoïdes : les lymphocytes T (qui sont les plus représentés dans le thymus et les nœuds lymphatiques) et les lymphocytes B (qui sont les plus représentés dans la rate et la moelle osseuse). Ces cellules peuvent parfois être différenciées macroscopiquement grâce à leur morphologie, mais elles le sont surtout par l'utilisation d'un immun marquage permettant de distinguer, à la surface des lymphocytes, des marqueurs spécifiques appelés CD (Clusters of Différenciation antigènes). Par exemple, les CD 79 sont considérés comme des marqueurs généraux des lymphocytes B, les CD 3 comme des marqueurs généraux des lymphocytes T. La présence de marqueurs particuliers est ensuite utilisée pour distinguer avec précision les différentes catégories lymphocytaires.

- **Les monocytes :**

Les monocytes sont des cellules grossièrement rondes, de grande taille (entre 15 et 20 microns). La chromatine est irrégulièrement mottée. Le cytoplasme, abondant, est grisâtre à bleuté, contenant souvent de petites vacuoles optiquement vides et de taille hétérogène.

Les monocytes appartiennent à la famille des phagocytoses mononuclées, contenant aussi les histiocytes dans les tissus conjonctifs et les macrophages dans le parenchyme des organes internes et des cavités splanchniques.

Les cellules du système du phagocyte mononuclées (SPM) ont à leur surface de nombreux récepteurs qui leur permettent de reconnaître des antigènes opsonines (c'est-à-dire liés à des fractions du complément ou à des immunes globines). Ces derniers sont phagocytés par les cellules du SPM, les vacuoles de phagocytose fusionnent avec des lysosomes, ce qui déclenche des mécanismes d'oxydoréduction détruisant les éléments antigéniques. Cette fonction de « nettoyage » n'est pas seulement dirigée contre les éléments étrangers à l'organisme, puisque les macrophages vont aussi phagocyter et parfois recycler des débris cellulaires (en particulier les noyaux des érythroblastes médullaires), des ions (en particulier le fer) et certains métabolites.

Les macrophages ont aussi rôle crucial dans la réponse immunitaire à médiation humorale et font partie des cellules présentatrices d'antigènes. En effet, après fixation et internalisation des

microorganismes, ils vont procéder à leur remaniement et les rendre beaucoup plus immunogènes.

Par ailleurs, les macrophages sécrètent des substances stimulant la prolifération lymphocytaire d'une part, et le recrutement de cellules de l'inflammation d'autre part, augmentant ainsi à la fois la réponse immunitaire à médiation cellulaire et la réponse immunitaire à médiation humorale.

- ***Modification morphologiques des leucocytes***

- ✓ Les polynucléaires :

Plus leur noyau est lobé et plus ils sont vieux. La présence d'une population de jeunes polynucléaires neutrophiles peu lobés sur le frottis sanguin évoque un phénomène inflammatoire aigu ou un foyer de suppuration au sein de l'organisme. Généralement, une leucocytose est associée, mais dans les abcès profonds chroniques, la numération leucocytaire peut être normale a diminuée sous l'effet de la séquestration des cellules granuleuses dans le foyer de suppuration.

Des hypo segmentations d'origine génétique ont été décrites, telle l'anomalie de Pelger-Huet : les polynucléaires présentent des noyaux bilobés ou presque rond, parfois en anneaux. Dans la maladie de Chediak-Higashi (anomalie génétique), les polynucléaires neutrophiles, éosinophiles, et les monocytes présentent des granulations rougeâtres aberrantes dans le cytoplasme. Dans ces deux atteintes génétiques, l'activité phagocytaire des granulocytes est réduite mais pas absente.

Chapitre III :

ETUDE DE LA FORMULE LEUCOCYTAIRE

I. Valeurs usuelles et variations physiologiques de la numération –formule leucocytaire

La numération-formule leucocytaire est établie grâce à un automate d'Hématologie, à partir d'un échantillon de sang prélevé sur le patient qui nécessite cette analyse.

1) Etablissement d'une formule et numération leucocytaire :

La prise de sang nécessaire à l'établissement de cette formule sera réalisée au niveau de :

- ✓ la veine jugulaire (de préférence), céphalique ou saphène l'aide d'une aiguille de jauge 20 à 22.

L'utilisation d'une aiguille de jauge la plus faible possible est préférable pour éviter une hémolyse qui perturberait l'analyse de ce sang.

Le sang ainsi prélevé est immédiatement placé dans un tube contenant de l'EDTA pour éviter la coagulation et préserver les cellules. Ce tube est ensuite délicatement retourné pour éviter la formation de caillots, de bulles d'air mais aussi l'hémolyse.

a) Automates d'Hématologie :

• Principes de fonctionnement :

Les automates d'hématologie actuels fonctionnent sur la base de trois principes différents :

- **l'appréciation de l'épaisseur des couches cellulaires** sur le sang centrifugé, dite analyse quantitative du « Buffy-Coat » (Q.B.C.).

- **la détection volumétrique des particules par variation d'impédance** (Principe Coulter).

- la détection optique par diffraction (cytométrie en flux) :

Les deux premiers procédés permettent d'obtenir à la fois la numération des globules blancs, une approche de la formule leucocytaire ainsi que, pour certains automates, une courbe de répartition du volume des leucocytes. Cette courbe permet d'apprécier la formule leucocytaire de façon semi-quantitative, sachant qu'elle se présente sous la forme de deux dômes : celui des lymphocytes est à gauche et celui des granulocytes à droite. (cf. figure 1: Courbe de répartition du volume leucocytaire).

Le principe de détection optique par diffraction est fondé sur l'analyse la quantification de différents paramètres obtenus à partir des signaux lumineux émis par une cellule traversée par un faisceau laser. L'étude de la diffraction optique des signaux en provenance de chaque cellule permet de connaître sa taille et sa

« granulose » (présence de granulations cytoplasmiques). Les automates d'hématologie qui utilisent ce principe d'analyse affichent la numération et la formule leucocytaire. Pour certains cytomètres, les cinq types de leucocytes sont caractérisés en combinant deux paramètres : la taille cellulaire et la mesure de l'activité peroxydasique des granulations (possible grâce au couplage d'un automate de cytochimie au cytomètre).

- **Avantages et inconvénients :**

Les avantages de l'automatisation sont d'assurer une meilleure reproductibilité, une plus grande précision des résultats et une bonne rapidité d'exécution. Son inconvénient principal est le coût de l'appareil. Des risques d'erreur existent, quel que soit l'appareil utilisé. Pour obtenir un résultat fiable, il convient de ne pas oublier les règles élémentaires de l'étalonnage et du contrôle de qualité de ces appareils sophistiqués.

Aucun automate a la possibilité d'identifier avec suffisamment de fiabilité, et dans les conditions requises de débit, des populations autres que les cinq populations observées chez le sujet adulte sain.

Pour les automates à variation d'impédance, toute particule dont le volume est celui d'une plaquette, d'un globule rouge ou d'un leucocyte peut être compté comme tel.

Pour les automates Q.B.C., il arrive que la séparation entre les différentes couches, sous l'impulsion de phénomènes pathologiques, soit floue ou irrégulière, en raison de la modification de la densité des cellules.

Pour les cytomètres en flux, des erreurs d'identification des granulocytes basophiles sont décrites chez le chien.

b) Le frottis sanguin :

✓ **Principe**

Une goutte de sang est étalée de manière uniforme sur une lame de verre afin d'obtenir une monocouche cellulaire.

Cet étalement, après séchage et coloration, est ensuite examiné au microscope pour la réalisation d'une étude morphologique et quantitative des cellules sanguines, en particulier les leucocytes. Il permet, ainsi, l'établissement de la formule leucocytaire par comptage sur un frottis sanguin coloré par la méthode de May-Grünwald-Giemsa à partir de 100 ou 200 cellules.

Le frottis peut aussi être réalisé à partir de sang périphérique, pour une mise en évidence plus probable de certains parasites de globules rouges (ex : Babésia canis chez le chien).

✓ **Réalisation :**

Avant la réalisation de l'étalement, le tube EDTA est délicatement retourné pour homogénéiser et remettre en suspension les éléments cellulaires.

1. Une goutte de sang est déposée à 1 cm du bord mat d'une lame porte-objet. Le bord d'une seconde lame est placée au contact de la première suivant un angle de 30° environ, l'arête étant entre la goutte et le bords non mat de la 1^{ère} lame.

2. On glisse ensuite vers la goutte de sang qui s'étale le long de l'arête par capillarité.

3. On pousse enfin, d'un mouvement continu, rapide et régulier la seconde lame vers l'extrémité opposée de la première. Le frottis ainsi obtenu ne doit atteindre ni les bords ni les extrémités de la lame.

N.B. : Certains auteurs opèrent à l'inverse, c'est-à-dire en tirant au lieu de pousser.

4. L'étalement est séché à l'air par agitation (ou à l'aide d'un sèche-cheveux, pour les colorations rapides). Le séchage est important, sans quoi des bulles ou des artéfacts, notamment sur la morphologie des hématies (aspect crénelé, corps réfringents, ...), peuvent apparaître.

L'interprétation des lames ainsi réalisées nécessite la coloration de celles-ci. La coloration de May-Grünwald-Giemsa est la référence en cytologie vétérinaire. Cependant, cette technique est relativement longue à mettre en place et, bien qu'imprécises, des colorations dites « rapides » suffisent à une interprétation en clinique courante.

✓ **Lecture :**

A l'oeil nu : Contrôle de la qualité d'étalement de la lame (épaisseur, répartition, stries, ...) .Au faible grossissement : (obj. x 4 ou x 10) .Contrôle de l'intégrité des cellules, répartition selon la taille cellulaire (les plus grosses cellules, comme les monocytes ou les granulocytes se retrouvent en queue de frottis), au grossissement moyen : (obj. x 25 à x 40) .Appréciation de la numération leucocytaire par l'examen de la queue du frottis (leucopénie, leucocytose majeure, ...) . A fort grossissement : (obj. x 100, à immersion), appréciation de la morphologie cellulaire (cellules anormales, ...), établissement de la formule leucocytaire (sur >100 leucocytes).

2. Formation et devenir des leucocytes :

❖ **Devenir des granulocytes neutrophiles (G.N.) :**

Produit en 3 à 5 jours dans la moelle osseuse hématopoïétique, les G.N. y sont ensuite stockés 24 heures constituant un pool de réserve mobilisable au besoin. Ils passent ensuite dans le sang où ils restent environ une dizaine d'heure avant de migrer vers les tissus. Dans le secteur vasculaire, les G.N. se répartissent en un pool circulant et un pool marginé :

- le pool marginé est constitué des G.N. adhérant de façon réversible à l'endothélium des vaisseaux sanguins (spécifiquement les veinules et capillaires).

- le ratio entre neutrophiles circulants et marginés est de 1/1 chez le chien.

(N.B. : la numération leucocytaire ne prend en compte que les G.N. circulants)

Certains neutrophiles peuvent être détruits dans la rate, le foie ou la moelle osseuse par les macrophages de ces différents organes. Les neutrophiles passent ensuite dans les tissus, de façon irréversible, pour y assurer leurs fonctions. Ils y survivent quelques jours et meurt par apoptose s'ils ne sont pas détruits avant, dans un foyer infectieux.

❖ **Devenir des granulocytes éosinophiles (G.E.) :**

Leur devenir est similaire aux G.N. :

- la durée de la production et du stockage médullaires est comparable (2 à 6 jours).
- la durée du passage des éosinophiles dans le sang est très courte (quelques heures environ).
- ils gagnent ensuite les tissus où ils persistent quelques jours avant d'être détruits en jouant leur rôle ou par apoptose.

On peut toutefois noter que les G.E. sont des cellules à fort tropisme tissulaire. Ainsi, ils se localisent essentiellement sous les épithéliums de surface, aux portes d'entrée

d'antigènes (tractus respiratoire, gastro-intestinal, urogénital et peau).

❖ **Devenir des granulocytes basophiles (G.B.) :**

Les G.B. sont produits dans la moelle osseuse puis mis en circulation dans le sang en 2,5 jours au maximum. Le temps de demi-vie de circulation est d'approximativement 6 heures avant de migrer dans les tissus, où ils peuvent persister plusieurs semaines dans les conditions physiologiques.

❖ **Devenir des monocytes :**

Les monocytes sont libérés dans la circulation sanguine où ils circulent 1 plusieurs jours. Certains stimuli, comme des agents infectieux, peuvent entraîner un monocyte dans de nombreuses espèces par redistribution entre le pool circulant et marginé. Qu'un phénomène identique existe chez les carnivores domestiques n'est pas certain, mais, cependant, la monocytose observée après administration de glucocorticoïdes, chez le chien suggère qu'il existe un pool marginé de réserve. Dans le contexte d'une inflammation, le temps de production et de circulation des monocytes est réduit. Ils migrent ensuite irréversiblement dans les tissus où ils se différencient en macrophages, cellules présentatrices d'antigènes (CPA) ou histiocytes. Ceci est réalisé d'une façon aléatoire, sauf lors d'inflammation où les monocytes sont particulièrement attirés sur le site lésionnel (dans des proportions toutefois moins importantes que les G.N.). Ces cellules sont capables de se diviser (toutefois, seulement 5% des macrophages tissulaires conserverait cette particularité) ou de fusionner entre elles pour donner des cellules géantes multi nucléés sur les sites d'inflammation chronique.

Les monocytes, les CPA et les macrophages tissulaires forment le Système des Phagocytes Mononuclées (MPS). Ce système est présent dans tous les tissus ou cavités, comme les cellules de Küpffer dans le foie, les macrophages interstitiels et alvéolaires dans les poumons, les synoviocytes de type A dans les articulations et la microglie dans le cerveau. La durée exacte de vie des macrophages tissulaires n'est pas précisément connue mais on sait que les macrophages résidents ont une longue durée de vie (parfois plus d'un an) tandis que les macrophages ou monocytes répondant à une stimulation inflammatoire ont une espérance de vie beaucoup plus courte. Contrairement aux G.N., il n'existe pas de pool médullaire de réserve. Ainsi, les monocytes et leurs précurseurs (monoblastes et pro monocytes) étant présents en très petit nombre, leur mise en évidence est très difficile.

❖ Devenir des lymphocytes :

Tout comme pour les autres leucocytes, l'origine des lymphocytes est médullaire (sauf lors de la vie fœtale où celle-ci n'est pas exclusive). Mais, si la différenciation des lymphocytes pré-B en B a lieu aussi dans la moelle osseuse, celle des lymphocytes pré-T en T se déroule dans le thymus. Le thymus et la moelle osseuse constituent ainsi les organes lymphoïdes primaires.

Chez l'animal adulte, les lymphocytes se répartissent ensuite dans les organes lymphoïdes secondaires constitués par la rate, les amygdales, les nœuds lymphatiques et autres tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. L'essentiel des lymphocytes du sang circulant du chien et du chat sain est constitué des lymphocytes T (environ 30% de lymphocytes B contre 70% de lymphocytes T). A l'inverse des granulocytes et des monocytes dont la circulation est unidirectionnelle de la moelle osseuse vers le sang puis les tissus, les lymphocytes circulent en permanence 24 entre le sang, les tissus, les ganglions et la lymphe. La durée de transit dans le sang circulant à chaque circuit est estimée entre 8 et 12 H. Ainsi, et contrairement aux autres leucocytes, la durée de vie des lymphocytes circulants est importante, de plusieurs semaines à plusieurs mois, voire plusieurs années.

4. Variations quantitatives des leucocytes chez le chien :

Tableaux N°06: valeurs quantitatives des différents leucocytes chez le chien

Chien	(×106 /L)
Leucocytes	6000-17000
G.N.matures	2900-12000
G.N.non segmentés	0-300
G.E	100-1300
G .B	Rare
Monocytes	200-1600
Lymphocytes	1000-4800

Le comptage des leucocytes est exprimé à la fois en pourcentage et en nombre absolu de chaque type cellulaire par litre de sang. Cette dernière valeur permet une interprétation plus fiable lors de réponse à une maladie.

Les G.N. étant les leucocytes prédominants chez le chien, parallèle peut souvent être fait entre la variation du nombre de G.N. et la variation totale des leucocytes.

De nombreux facteurs physiologiques influent sur la variation leucocytaire, nous ne développeront que ceux entraînant les variations les plus significatives et en particulier les deux principaux : la peur et le stress.

A). Influences diverses constatées :

Certaines variations sont rapportées notamment lié à l'espèce, la période de la journée ou encore la saison. Ainsi, des études, en particulier sur des Beagles (**Spurling, 1977 ; Andersen and Schalm, 1970**). Ont mis en évidence que les jeunes Beagles avaient un nombre de leucocytes bas vers 6H00 du matin qui augmentait progressivement jusqu'à un maximum à 2H00 du matin suivant, en relation avec l'activité physique de l'animal. (**Andersen and Schalm, 1970**).

Cette particularité n'est pas retrouvée chez les Beagles adultes. Cependant, il a été constaté un nombre plus élevé de neutrophiles chez les vieux Beagles relativement aux autres espèces. D'autre part, une variation saisonnière d'environ 2500.10⁶ leucocytes/L de sang a été relevée, chez des Beagles, entre le début de l'été (où la valeur est la plus élevée) et l'automne et l'hiver.

Il existe, enfin, peu de variations leucocytaires liées au sexe contrairement à l'influence de l'âge de l'animal.

B). Influence de l'âge :

La valeur physiologique de la numération leucocytaire concerne un animal avec une Activité physique normale, en incluant les effets de l'âge. Celle-ci est plus élevée chez des animaux jeunes et diminue progressivement avec l'âge, en rapport avec la diminution du nombre de lymphocytes et de neutrophiles.

Le nombre de lymphocytes est plus faible à la naissance que chez l'adulte. Il augmente ensuite progressivement jusqu'à l'âge de 12 semaines puis diminue enfin à partir de 4 mois, pour atteindre finalement les valeurs usuelles de l'adulte. (40)

Chez le chat, une inversion de la formule leucocytaire (plus de lymphocytes que de G.N.) est fréquente avant l'âge d'un an, mais peut également être présent chez l'adulte.

C). Effets de la gestation et de la lactation :

Durant la gestation, le nombre de leucocytes (en particulier les granulocytes neutrophiles) augmente jusqu'à environ $19000 \cdot 10^6$ cellules/L au terme. (**Schalm's, 5th édition**).

Il diminue ensuite au cours de la lactation ou se maintient jusqu'au sevrage.

D). Formule de stress :

Elle ne doit pas être confondue avec la leucocytose physiologique. En effet, elle est liée à l'augmentation de la sécrétion endogène ou à l'administration exogène de corticoïdes.

Même s'il s'agit toutes les deux de leucocytoses, elles n'ont, à la fois, pas la même origine et pas les mêmes caractéristiques. En effet, la leucocytose de la formule de stress va s'accompagner d'une neutrophilie, d'une lymphopénie, d'une éosinopénie et parfois d'une monocytose chez le chien :

- la neutrophilie est secondaire à :

* une libération accrue de G.N. à partir du pool de réserve médullaire vers le sang circulant.

* une diminution de migration des G.N. du secteur circulant vers le secteur tissulaire.

* une démargination des G.N. vers le secteur circulant.

La libération de formes immatures de granulocytes (métamyélocytes, myélocytes, ...) donc des formes hypo -segmentés, dans le sang circulant, suite à la séquestration des formes matures dans un abcès par exemple, définit une déviation à gauche par rapport à la réalisation d'une courbe de répartition des granulocytes selon l'importance de la lobation nucléaire, encore appelée courbe d'Arneth. Les neutrophiles sont le plus souvent modérés et n'entraînent pas de déviation à gauche de la courbe d'Arneth. En effet, l'arrivée de cellules jeunes (à lobation nucléaire discrète) à partir du pool médullaire est compensée par le nombre accru de G.N. hyper- segmentés qui résultent de la diminution de la migration vers les tissus (augmentation de la durée de vie sanguine).

- la lymphopénie résulte de la modification de la circulation lymphocytaire, avec une accumulation des lymphocytes dans le secteur lymphatique (lymphe et organes lymphoïdes).

- l'éosinopénie découle d'une diminution du passage des G.N. médullaires vers le secteur circulant ainsi que d'une migration tissulaire accrue.

- la monocytose est occasionnellement remarquée chez le chien, et résulterait d'une mobilisation des monocytes marginés.

La lymphopénie et l'éosinopénie sont les modifications les plus constantes de la formule de stress.

Les circonstances génératrices de stress entraînant une sécrétion accrue de corticoïdes endogènes sont multiples.

- les maladies métaboliques, la douleur, les lésions traumatiques ou chirurgicales, les septicémies et toxémies, les températures corporelles extrêmes, les anémies sévères ;

- en fin de gestation chez la chienne.

- lors d'hyperadrénocorticisme (maladie de Cushing).

L'administration de corticoïdes ou d'ACTH se traduira aussi par une telle leucocytose, avec un retour à la normale dans les 2 heures pour une injection unique ou en 2 à 3 jours lors de traitements prolongés ou après administration d'une forme retard ; tandis qu'elle n'apparaîtra que 6 à 8 heures après une prise oral unique de prédnisolone, pour disparaître 12 à 48 heures plus tard. On peut toutefois noter un retour plus rapide dans les valeurs usuelles de la numération des neutrophiles par rapport à celle des lymphocytes. Lors de stress intense, une leucocytose qui va de $15000 \text{ à } 40000 \cdot 10^6 \text{ cellules/L}$ peut être observée, sous l'effet des glucocorticoïdes endogènes.

F). Variations du nombre de granulocytes neutrophiles :

Chez le chien, le nombre de granulocytes neutrophiles est compris entre $2900 \text{ et } 12000 \cdot 10^6 / \text{L}$.

Les G.N. sont les plus nombreux de la formule leucocytaire ; ainsi, leurs variations, physiologiques ou pathologiques, vont avoir des répercussions importantes sur la numération leucocytaire.

G). Variations du nombre de granulocytes éosinophiles et de basophiles :

Chez le chien, le nombre des granulocytes éosinophiles est compris entre $100 \text{ et } 1300 \cdot 10^6 / \text{L}$ Les basophiles constituent un très faible pourcentage des leucocytes circulants : de $0 \text{ à } 140 \cdot 10^6 / \text{L}$ chez le chien

Les basopénies et les éosinopénies sont sans signification clinique, mis à part l'expression éventuelle d'un stress avec sécrétion de glucocorticoïdes. L'effet dépresseur sur la concentration d'éosinophiles est en général plus marqué que sur celle des basophiles. Lors

d'inflammation aiguë ou d'infection, les éosinopénies peuvent aussi résulter d'un relargage de corticostéroïdes (par neutralisation de la circulation d'histamine, inhibition de la dégranulation des mastocytes, attraction des éosinophiles dans les organes lymphoïdes après relargage de cytokines ou encore induction de l'apoptose des éosinophiles) et de catécholamines (par un effet β -adrénergique, comme le prouve l'annulation de l'effet par l'injection de β -bloquants). Celles-ci sont toutefois difficiles à interpréter, ces granulocytes n'étant pas toujours détectés même chez des animaux sains. En effet, le nombre de granulocytes éosinophiles et basophiles contribue pour moins de 2% à la formule

leucocytaire des chiens. Les éosinophilies et basophilies sont, en revanche, toujours pathologiques. Parfois, mais non systématiquement, les basophilies accompagnent les éosinophilies.

H). Variations du nombre de monocytes :

Chez le chien, le nombre des monocytes circulants est de 200 à 1600.10⁶/L.

La monocytopenie est sans signification clinique. Chez le chien, lors de stress, on peut observer une monocytose physiologique due à la sécrétion endogène de corticoïdes.

I). Variations du nombre de lymphocytes :

Chez le chien adulte, le nombre des lymphocytes varie de 1000 à 4800.10⁶/L de sang. Chez le jeune chien, le nombre de lymphocytes est plus important, jusqu'à l'âge de 6 mois, avec des valeurs atteignant au moins 20000.10⁶ cellules/L de sang, en particulier lors d'excitation avec sécrétion d'adrénaline. Au contraire, chez l'adulte, la lymphocytose physiologique est rare. Une lymphopénie peut être observée à tout âge avec sécrétion de glucocorticoïdes endogènes (cf. formule de stress).

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

1-Objectif :

Cette étude a pour but d'apporter des données supplémentaires concernant les numérations leucocytaires normale par classe l'âge, sexe et race,

2. Matériel et méthodes :**L'effectif étudié**

Les animaux retenus pour notre étude, sont au nombre de 19 chiens .ceux –ci étaient présenté en consultation au service de pathologie des carnivores du laboratoire d'hématologie (Institut des Sciences Vétérinaires de l'Universités IBN K HALDOUN de Tiaret, durant la période comprise entre 01/03/2012 et 16/05/2012, et pour lesquels un leuco gramme était réalisé dans le but d'étudier la variation de la formule leucocytaire.

1) Matériel :

Pour notre expérimentation, nous avons utilisés le matériel suivant :

- ✓ Cellule de MALLASSEZ.
- ✓ Tubes à EDTA.
- ✓ Aiguille pour prélèvement.
- ✓ Colorant MGG (May-Grunwald-Giemsa
- ✓ Lazarus
- ✓ Lames
- ✓ Lamelles
- ✓ Micropipette
- ✓ Huile de cèdre
- ✓ Microscope optique
- ✓ Eau distillée.

2) Méthode :**Démarche :**

Une fois le cas reçu un examen clinique détaillé est effectué avec obtention d'un diagnostic préliminaire pour une pathologie connue puis, pour chaque cas on prépare une fiche clinique qui contient ces informations

Un prélèvement sanguin réalisé à la fin de chaque consultation permettait de la deuxième étape de travail ou laboratoire d'hématologie afin d'étudier la formule leucocytaire d'une part le calcul du nombre des globules blancs par comptage manuel, d'une autre part par la coloration MGG des frottis sanguins qui a permis d'obtenir un pourcentage de la population de globules blancs de chaque cas.

FICHE CLINIQUE

Date : 01/03/2012

Patient n° : 01

Race	Locale
Sexe	Femelle
Age	1.5 an

Régime alimentaire de Qualité

Bonne
Moyenne
Médiocre

Appétit :

Bon
Conservé
Capricieux

Condition d'environnement

Bonnes
Moyennes
Mauvaises

a) **Numération des globules blancs :**

Dilution du sang .1/20

950µm LAZARUS avec 50 µm du sang (pour la destruction du globules rouge) on prend une petite quantité de cette dilution pour quelle diffuse entre la cellule de MALLASSEZ et la lamelle on réalise une lecture au microscope optique ,grossissement 40

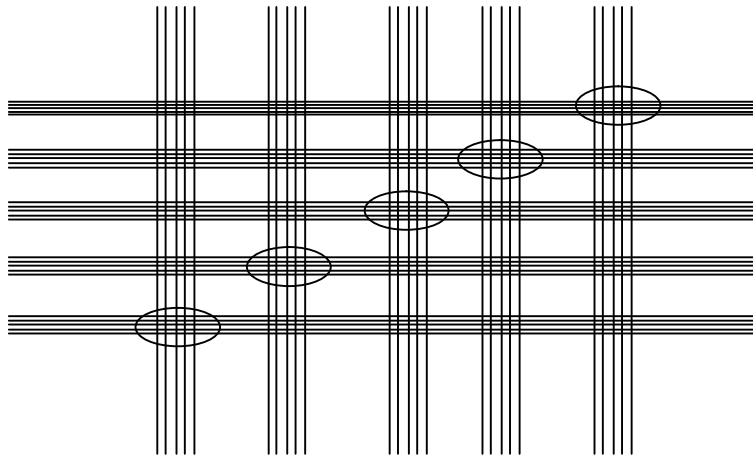


Photo N°7. Cellules de MALLASSEZ

Le volume total de la cellule est de 1 mm³ (2.5×2mm×0.20mm)

Le comptage se fait sur une colonne qu'est constitué de 5 grands carreaux puis on réalise la formule suivante :

NGB =10×20×NGC (nombre de globule compter)

b) La coloration MGG (May-Grunwald-Giemsa) :

C'est une coloration très utilisée, elle est classée parmi le colorant synthétique neutre Eosine de bleu de méthylène (May-Grunwald) et Eosine d'azur 1et 2 de bleu de méthylène (Giemsa)

- Méthode de coloration :

La technique utilisée est celle du May-Grunwald –Giemsa (MGG) qui comporte plusieurs temps

- Fixation et coloration au May-Grunwald (Eosine de bleu de méthanol)

- Recouvrir complètement le frottis par May-Grunwald.
- Laisser agir une minute
- Ajouter sur la May- Grunwald autant d'eau distillé, laisser agir 1à2 minutes.

- Coloration au Giemsa :

La coloration MGG doit être préparée la solution de Giemsa selon les modalités suivantes :

Pour une lame :

Colorant de Giemsa (3 gouttes)

Eau tamponnée

- Rejeter le May-Grunwald qui recouvre la lame
- Recouvrir immédiatement la lame par la solution de Giemsa préparée extemporanément
- Laisser agir 20 à 30 minutes.
- Egoutter et laisser sécher

On immerge le frottis par l'huile de cèdre, puis le contenu de la lame doit passer par le voire au microscope avec grossissement de 100 de l'immersion.

La technique de coloration et de numération entreprise dans notre expérimentation est réalisée en se basant sur celle décrite dans la partie bibliographique

RESULTATS
ET DISCUSSIONS :

2. Résultats et discussions :**Tableau a:** Présentation des 19 cas :

Cas	Date	Race	Age	Sexe
01 Liza	01/03/2012	Locale	1.5 an	Femelle
02 Rocky	01/03/2012	Berger croisé	04 mois	Male
03 Jack	04/03/2012	Doberman	13 mois	Male
04 Rock	04/03/2012	Berger allemand	10 mois	Male
05 Reicha	05/03/2012	Locale	10 mois	Femelle
06 Maya	05/03/2012	Berger allemand	02 ans	Femelle
07 Fox	05/03/2012	Locale	06 mois	Male
08 Rocky	13/03/2012	Doberman	05 ans	Male
09 Bikin	09/04/2012	Berger croisé	13 mois	Male
10 Prince	09/04/2012	Locale	9 mois	Male
11 Maya	15/04/2012	Locale	10 mois	Femelle
12 Jack	15/04/2012	Berger allemand	1 an et 03 mois	Male
13 King	18/04/2012	Lévrier	1.5 an	Male
14 Bobby	18/04/2012	Lévrier	05 mois	Male
15 Liza	09/05/2012		1 an	Femelle
16 Prince	13/05/2012	Chien de chasse	04 mois	Male
17 Minoo	15/05/2012	Locale	3 semaines	Male
18 Nana	15/05/2012	Braque	05 mois	Femelle
19 Jack	16/05/2012	Berger croisé	10 mois	Male

Répartition de la lignée leucocytaire :

Tableau N ° 01 : variation de lignée leucocytaire selon : sexe et l'âge

		Femelle ♀	Male ♂	Jeune	Adulte
N	<43%	00	00	00	00
		0%	0%	0%	0%
	43% à 87%	10	14	07	17
		100%	100%	100%	100%
	>87%	00	00	00	00
		0%	0%	0%	0%
L	<2.8%	00	00	00	00
		0%	0%	0%	0%
	2.8% à 36.9%	10	14	07	17
		100%	100%	100%	100%
	>36.9%	00	00	00	00
		0%	0%	0%	0%
M	<1.7%	01	01	01	01
		10%	07%	14%	06%
	1.7% à 10.8 %	09	13	06	16
		90%	93%	86%	94%
	>10.8%	00	00	00	00
		0%	0%	0%	0%
E	0% à 17%	11	19	09	17
		100%	100%	100%	100%
	< 17%	00	00	00	00
		0%	0%	0%	0%
B	0.1% à 0.26%	03	08	03	08
		30%	70%	43%	47%
	<0.26%	07	06	04	09
		70%	43%	57%	53%

Les résultats de ce tableau (variation des lignes leucocytaire), et d'après l'étude bibliographique, on observe que chez les jeunes il y a augmentation des deux lignes (N, L) et diminue avec l'âge.

Mais dans le tableau on n'observe pas cette modification

Dans la partie qui concerne la variation selon le sexe, et d'après l'étude bibliographique, on observe qu'il y a augmentation des deux lignes (N, L) beaucoup plus chez la femelle que le male mais le tableau montre qu'il y a aucune modification selon le sexe donc cette variation peut être due à des pathologies.

Et qui concerne la ligne (M); d'après le tableau on observe :

- 10% chez les femelles ayant une valeur < 1.7% et les restes dans les normes.
- 07% chez les males ayant une valeur < 1.7 % et les restes dans les normes.

- 14% chez les jeunes ayant une valeur <1.7% et les restes dans les normes.
- 06% chez les adultes ayant une valeur <1.7% et les restes dans les normes.

Ces valeur peut due à la pouvoir de phagocytose (bactérie, levure, protozoaires, cellule infectées...) ils régulent l'inflammation via la production de nombreux messagères (cytokines , prostaglandine..) Ce sont des cellules présentatrices d'antigène pour les lymphocytes Ils interviennent dans le renouvellement cellulaire en détruisant les cellules Pour les basophiles et les éosinophiles à cause de son valeurs basses on ne peut pas l'évaluer d'une façon exacte.

D'après les résultats de ce tableau on ne constate que toutes les valeurs de neutrophile et de lymphocyte sont dans les normes.

Conclusion Generale

Conclusion générale

Nous pouvons conclure ce qui suit :

L'étude de la numération –formule leucocytaire et du frottis sanguin se révèle être un outil essentiel, pour le clinicien, au diagnostic, au pronostic ainsi qu'au suivi de nombreuses maladies.

Les paramètres physiologiques étudiés n'ayant pas une grande influence sur l'hémogramme sauf certain cas comme la gestation peut modifier certains paramètres hématologiques.

La méthode de MGG est une technique d'usage courant dans les laboratoires permettant la mise en évidence des parasites sanguins.

En fin nous pouvons dire que l'examen de laboratoire de la formule leucocytaire nécessite obligatoirement le passage pour le clinicien et essentiellement le diagnostic préliminaire que lui-même est en relation étroite avec le leucogramme pour plus de certitude.

Le leucogramme reste un outil fiable mais incomplet sans la prise en compte d'autres analyses par exemple : (FNS) et des tests biochimiques.

La date	Nom	sexe	age	race	N	L	M	E	B
		Femelle	1.5 an	Locale	19584 72%	6800 25%	272 1%	272 1%	00 0%
01/03/2012	Rocky	Male	04 mois	Berger Croisé	7847 73%	1727 16%	1075 10%	107 1%	00 0%
04/03/2012	Jack	Male	13 mois	Dober man	5440 80%	1020 15%	102 1%	204 3%	340 0.5%
04/03/2012	Rock	Male	10 mois	Berger alleme n	7668 71%	2160 20%	864 8%	108 1%	00 0%
05/03/2012	Reicha	Femelle	10 mois	Locale	2961 71%	1004 24%	380 09%	1510 4%	10 1%
05/03/2012	Maya	Femelle	02 ans	Berger allema nd	2975 70%	1100 26%	85 2%	42 1%	42 1%
05/03/2012	Fox	Male	06 mois	Locale	5364 73%	1034 18%	593 9%	00 0%	00 0%
13/03/2012	Rocky	Male	05 ans	Dober man	6110 68%	2500 27%	346 3%	22 1%	22 1%
09/04/2012	Bikin	Male	13 mois	Berger croisé	3450 72%	1020 15%	597 10%	00 0%	00 0%
09/04/2012	Prince	Male	09 mois	Locale	4680 60%	1950 25%	702 9%	390 5%	78 1%
15/05/2012	Maya	Femelle	10 mois	Locale	5554 81%	1232 19%	100 0.5%	00 0%	00 0%
15/04/2012	Jack	Male	1 an et 03 mois	Berger allema nd	6500 73%	1100 20%	600 8%	33 1.5%	30 1.5%
18/014/2012	King	Male	1.5 an	Lévrier	1333 70%	1915 14%	1600 9%	764 4%	100 1%
18/04/2012	Bobby	Male	05 mois	Lévrier	7600 71%	2200 24%	860 7%	104 1%	00 0%
09/05/2012	Liza	Femelle	1 an	Berger allema nd	15680 80%	2920 15%	784 4%	00 0%	00 0%
13/05/2012	Prince	Male	04 mois	Chien de chasse	2900 71%	1040 18%	900 9%	140 3%	00 0%
15/05/2012	Minoo	Male	semaine	Locale	16000 82%	2930 29%	1100 10%	200 4%	50 1%
15/05/2012	Nana	Femelle	05 mois	Braqu e	3160 70%	1300 28%	90 4%	00 0%	00 0%
16/05/2012	Jack	Male	10 mois	Berger croisé	2900 69%	1300 20%	200 6%	80 3%	00 0%

Référence Bibliographique

Référence Bibliographique

1. **Bachir Dora, Bouzid Kamel, Smail Farida (1989)** : Hématologie ^{2^{ème}} Edition Tome I, Office des publications universitaires.
2. **Benjamin Bachy 2006**
3. **Carola.T.Kapff et James .H.Jandl(1998)** : Le sang atlas commenté d'hématologie EDITION MADS. Paris.
4. **Casanova .P(1999)** : Hématologie édition ELLIPSEC.S.A.
C.BINET.(2003) :Faculté de médecine de tours le sang
5. **CEHKOURI KHEIRA (1999)** : Etude de quelque paramètres hématologiques ; Thèse d'école de formation paramédicale ; Tiaret.
6. **CHOQUET.S(2002)** : Hématologie ; Edition Ellipse ; Paris.
7. **Comazzi (1992)** :Hematological and biochemical,in canine blood .
8. **Copy right © 2005(internet)**
9. **DANIEL.L, HARTH.ELISABATH, jones.W(2003)**:Génétique le grand principe ; 3^{ème} Edition ; Paris
- 10**DANIELLA.TA.GLIASACCHI et GIORGIE.C(2005)** : La cellule sanguine ; Edition Paris.
11. **David li dieu(2004)** : Laboratoire en clinique vétérinaire Edition malouine(1993).
12. **D.PERRET (2001)** : Revue de médecine vétérinaire Tome152 volumes 7.
13. **E.H.COLES (1999)** : le laboratoire en clinique vétérinaire .Edition vigot gacem François lurbine, et Christiane dorangeville (20008) : nouveau guide du chien ; Edition Québec-Amérique
14. **Gacem Yasmina (2008)** : diagnostic hématologique des chiens domestiques, université Tiaret

- 15. GERARD TORTORA, SUNDRA REYNOLDS, GRABOWSKI, CLAUDE 19-PARENT (1999) :** Principes d'anatomie et de physiologie ; Edition Canada.
- 16. GIORGIE.C, DANIELA.TAGLIASACCHI (2005) :** Les cellules sanguines ; Edition Paris.
- 17. Guide d'analyse vétérinaire 9,** Boulevard des Columbus .Genopole. BP 142.91005 Evry Cedex édition vêt France.
- 17. GROULADE .P(1979) :** clinique canine 2^{ème} édition malouine
- 18. HAROLD TVENT :** laboratoire en clinique vétérinaire malouine(1993)
- 19. Landsberg:** the blood picture of mature normal dogs anet rec (1942)
- 20. LAURENT .D.SILBERNAGL.S, DESPOPULOSA .A(1999):** Atlas de poche et de physiologie 2^{ème} Edition Paris.
- 21. Ledieu (2004) :** Réalisation d'un frottis sanguin.
- 22. Ledieu (2004) :** Variation des granulocytes, éosinophiles, basophiles et monocytes chez les chiens et les chats
- 23. Mayreson (1930):** the blood cytology of dogs .anat.rec.1930.
- 24. Rick :** Guide de cytology et d'hématologie de chien et de chat
- 25. Rowsell H.C; Blood** coagulation and hémorragique disorders of veterinary clinical pathology (1969)
- 26. sante-medicine:**[http://sante-medicine .commentcamarche.net/faq/2001-comprendre-la-numeration-formule-sanguine-nfs](http://sante-medicine.commentcamarche.net/faq/2001-comprendre-la-numeration-formule-sanguine-nfs).
- 27. STEPHANIE LEJEUNE (2004) :** organisation du système immunitaire canine, thèse de l'université de Cloud BERNARD (Layon)
- 28. SULTAN.S, PRIOLET.G, BENZID.Y, ROSA.R(1978) :** technique et hématologie ; 2^{ème} Edition Flammarion Paris.
- 29. TRAINAU RICHARD, CORINE SLIWKA, FRANCOIS LEFERE (1995) ;** hématologie et de soin infirmière, Edition lammarre Paris
- 30. vetocyt :** www.vetocyt.com
- 31. WILLARD (1993) :** Laboratoire en clinique vétérinaire édition malouine (1993)