



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE

ET POPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université IBN KHALDOUN Tiaret

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : " Sciences de la Nature et de la Vie "

Filière : "sciences agronomique"

Spécialité : "Production Animale"

Thème

**Les variations hématologiques chez la vache au  
cours de la gestation.**

Présenté par: **Melle YOUCEF DJOHER**

**Jury**

**Grade**

**Président :**

NIAR Abdelatif

Professeur

**Encadreur :**

HEMIDA Houari

MCA

**Co-Encadreur :**

SMAIL Fadhila

MCB

**Examineur I:**

BENCHAIB Fatima

Professeur

**Année universitaire 2019/2020**

## *Remerciements*

*Il est primordial de remercier « ALLAH » le Tout-Puissant de tout ce qu'il nous apporte dans la vie et de nous avoir donné la force et le courage pour réaliser ce travail.*

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à mon encadreur Dr : HAMIDA Houari, pour son savoir-faire, ses conseils, sa compétence, sa patience, son enthousiasme et l'attention particulière avec laquelle elle a suivi et dirigé ce travail.*

*Mes vifs remerciements vont également à Dr : SMAIL Fadhila, ma Co-encadreur pour son aide et ses conseils bien avisés, pour ses remarques constructives qui ont contribué à l'amélioration de ce mémoire.*

*Mon remerciement s'adresse également à Dr : ACHIR MOUHAMED pour sa générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leur charge académique et professionnelle.*

*Mes respects et mes reconnaissances vont au Pr : NIAR Abdelatif, pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Je tiens à remercier Dr : BENCHAIIB Fatima, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Je remercie aussi Dr : BERANI Abdelkader pour leur aide et leur encouragement.*

*Mes remerciements s'adressent à mon ami : TIMOULI Ibrahim pour son aide et son soutien moral et ses encouragements.*

## DEDICACES

*Les études sont avant tout*

*Notre unique et seul atout*

*Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis jour et nuit nous mène*

*Vers le bonheur fleuri.*

*Je dédie mon travail ;*

*À La mémoire de **ma très chère mère Mimouna** pour ces précieux conseils, et qui a sacrifié sa jeunesse pour la réussite de mes études et assurer les bonnes conditions de vie, pour sa patience et son courage. Tu seras toujours présent dans mon cœur et Dieu te bénis dans son vaste paradis ;*

*À **mon cher père Mohamed** qui a voulu me voir réussir. Merci infiniment pour tout ton dévouement et pour les sacrifices que tu t'es imposé pour m'assurer la belle vie et la réussite.*

*À **mes très Chers Frères** Abdelhak ; Ahmed ; Ibrahim Yacine ; Farouk ; Tadjeddine.*

*À **mes très chères sœurs** Fatima ; Soumia ; Hanane.*

*En témoignage des profonds liens fraternels qui nous unissent. Ces quelques lignes ne sauront exprimer toute l'affection et l'amour que je vous porte. Puisse Dieu vous procurer santé, bonheur, et prospérité que vous méritiez.*

*À mon oncle **Abdelkader Bouchnafa** et sa femme **Fatiha**.*

*À toutes **mes tentes** Khaira ; Noura ; Fatma.*

*À mes cousines Hayat ; Bouchra ; Khadija ; Souaad ; Noura ; Ritadj ; Yousra.*

*À mes cousins Oussama ; Ramzi ; Azzedine ; saifelddine ; Younes ; Issam ; Adam*

*Que ce travail puisse vous exprimer mon profond attachement, mon amour et mon respect. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.*

*À mes très chères amies Aicha Boualiane ; Meriem ; Sarah ; Nourelhoda ; Karima ; Sinem ; Kenza ; Aicha Boualiane.*

*À mes très chers amis Timouli Ibrahim ; Ahmed Embarek,*

*À Tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des confrères sur qui je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*Merci et bon courage à toutes mes amies d'étude, je dis à vous tous pardon est bonne chance à vous. Je remercie tous ceux qui par leurs encouragements, leur aide, leurs conseils ou leurs critiques, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*À toutes et tous, un grand merci !*

*À toute personne qui m'aime.*

*À toute personne que j'aime.*

*À tous ceux qui cherchent le savoir.*

# Sommaire

---

## Sommaire

<b>Remerciements</b>	.....	<b>i</b>
<b>Dédicace</b>	.....	<b>ii</b>
<b>sommaire</b>	.....	<b>iii</b>
<b>Liste des tableaux</b>	.....	<b>vi</b>
<b>Liste des figures</b>	.....	<b>vii</b>
<b>Liste des abréviations</b>	.....	<b>viii</b>
<b>Résumé</b>	.....	<b>ix</b>
<b>Introduction</b>		

### PARTIE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>CHAPITRE I. PHYSIOLOGIE DU SANG CHEZ LES BOVINS</b>	<b>02</b>
I. Les différents constituants sanguins chez les bovins .....	<b>03</b>
I.1. Les érythrocytes.....	<b>03</b>
I.1.1. Morphologie.....	<b>03</b>
I.1.2. Rôles.....	<b>04</b>
I.1.3. Variations physiologiques et réaction en cas d'anémie.....	<b>04</b>
I.1.3.1. Variation de la taille et stabilité en solution.....	<b>05</b>
I.1.3.2. Variations de la forme .....	<b>06</b>
I.1.3.3. Erythropoïèse et réaction en cas d'anémie .....	<b>07</b>
I.1.4. L'hémoglobine.....	<b>07</b>
I.1.4.1. Les différents types d'hémoglobine .....	<b>08</b>
I.1.4.2. Evolution des différents types d'hémoglobine.....	<b>08</b>
I.1.5. Le métabolisme érythrocytaire.....	<b>09</b>
I.1.5.1. Biochimie érythrocytaire.....	<b>09</b>
I.1.5.2. Affinité pour le dioxygène.....	<b>09</b>
I.1.5.3. Oxydation des érythrocytes.....	<b>10</b>
I.2. Les polynucléaires neutrophiles.....	<b>10</b>
I.2.1. Morphologie.....	<b>10</b>
I.2.1.2. Les polynucléaires neutrophiles immatures.....	<b>11</b>
I.2.1.2.1. Le neutrophile non segmenté (« band neutrophile »).....	<b>11</b>
I.2.1.2.2. Le métamyélocyte.....	<b>12</b>
I.2.2. Rôles.....	<b>12</b>
I.3. Les polynucléaires éosinophiles.....	<b>12</b>
I.3.1. Morphologie.....	<b>13</b>
I.3.2. Rôles.....	<b>14</b>
I.4. Les polynucléaires basophiles.....	<b>15</b>
I.4.1. Morphologie.....	<b>15</b>
I.4.2. Rôles.....	<b>15</b>
I.5. Les lymphocytes.....	<b>16</b>
I.5.1. Morphologie.....	<b>16</b>
I.5.1.2. Les lymphocytes moyens.....	<b>17</b>
I.5.1.3. Les grands lymphocytes.....	<b>17</b>
I.5.2. Rôles.....	<b>18</b>
I.5.2.2. Le lymphocyte B.....	<b>20</b>
I.6. Les monocytes.....	<b>20</b>
I.6.1. Morphologie .....	<b>20</b>

## Sommaire

I.6.2.	Rôles.....	21
I.7.	Les plaquettes.....	22
I.7.1.	Morphologie.....	22
I.7.2.	Rôles.....	22
I.8.	Variations des paramètres hématologiques en fonction de facteurs physiologiques.....	23
I.8.1.	Influence de la race sur l'hémogramme des bovins adultes.....	23
I.8.2.	Influence de l'âge sur la composition du sang.....	23
I.8.2.1.	Variations de l'érythrogramme.....	23
I.8.2.2.	Variations des thrombocytes.....	23
I.8.2.3.	Variations des protéines totales.....	24
I.8.2.3.1.	Variation des protéines totales lors de la gestation.....	25

### Chapitre II. Propédeutique des différents paramètres sanguins

II.1.	L'érythrogramme = mesure des paramètres de la lignée rouge	26
II.1.1.	L'hématocrite.....	26
II.1.2.	Le taux d'hémoglobine.....	27
II.1.3.	La numération des globules rouges.....	27
II.1.4.	Les indices érythrocytaires de Wintrobe.....	28
II.1.4.1.	Le VGM.....	28
II.1.4.2.	La CCMH.....	29
II.1.4.3.	La TGMH.....	29
II.1.4.4.	Les formules de Wintrobe.....	29
II.1.5.	L'indice de distribution des rouges.....	30
II.2.	Le leucogramme = mesure des paramètres de la lignée blanche	30
II.2.1.	La numération leucocytaire totale.....	30
II.2.2.	La formule leucocytaire.....	31
II.3.	Le thrombogramme = mesure des paramètres de la lignée plaquettaire.....	32
II.3.1.	La numération plaquettaire.....	32
II.3.2.	Le volume plaquettaire moyen.....	32
II.3.3.	L'indice de distribution des plaquettes.....	32
II.3.4.	Le thrombocrite (TCT).....	32
II.5.	Les anticoagulants utilisés pour la réalisation d'un prélèvement sanguin	33
II.5.1.	L'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA).....	33
II.5.2.	Le citrate.....	33
II.5.3.	Les oxalates.....	33
II.5.4.	L'héparine.....	33
II.5.5.	Critères de sélection de l'anticoagulant en fonction de l'analyse réalisée et influence sur les paramètres hématologiques.....	34
II.6.	Les méthodes d'analyse et les automates utilisés en hématologie.....	35
II.6.1.	L'examen microscopique du frottis.....	35
II.6.1.1.	Principes de base.....	35
II.6.1.2.	Avantages et inconvénients.....	37
II.6.1.4.	Le comptage plaquettaire.....	37

## PARTIE II. ETUDE EXPERIMENTALE

### Chapitre I. Matériels et méthodes

I.	Matériels.....	38
I.1.	Animaux.....	38

## Sommaire

---

I.2.	Matériel de laboratoire.....	39
I.2.1.	Matériel.....	39
I.2.2.	Produits utilisés .....	39
II.	Méthodes.....	39
II.1	Prélèvement du sang.....	39
II.2.	Analyse Hématologique.....	40
II-3.	Réalisation du frottis sanguin .....	41
	Coloration au May-Grünwald-Giemsa (MGG).....	45
	Les étapes de coloration.....	45
	Protocole expérimentale.....	46
	<b>Discussion.....</b>	<b>47</b>
	<b>Conclusion.....</b>	<b>49</b>
	<b>Référence bibliographiques.....</b>	<b>50</b>

## Liste des tableaux

---

### Liste ses Tableaux

<b>Tableau 1.</b>	Matériel et les produits utilisés .....	<b>38</b>
<b>Tableau 2.</b>	Paramètres hématologiques mesurés .....	<b>39</b>



## Liste des figures

---

### Liste des Figures

<b>Figure 1.</b>	Anisocytose érythrocytaire chez un bovin (D'après Pathologie du bétail, Vet Agro Sup).....	<b>05</b>
<b>Figure 2.</b>	PNN mature chez un bovin (à droite) (D'après Pathologie du bétail, Vet Agro Sup).....	<b>10</b>
<b>Figure 3.</b>	Polynucléaire éosinophile chez un bovin adulte (D'après Pathologie du bétail).....	<b>12</b>
<b>Figure 4.</b>	Petit Lymphocyte chez un veau (D'après Pathologie du bétail, Vet Agro Sup).....	<b>15</b>
<b>Figure 5.</b>	Grand Lymphocyte chez un bovin adulte (D'après Pathologie du bétail).....	<b>16</b>
<b>Figure 6.</b>	Monocyte chez un veau (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup).....	<b>20</b>
<b>Figure 7.</b>	Réalisation d'un frottis sanguin (D'après (Lassen, 2004).).....	<b>35</b>
<b>Figure 8.</b>	Etat de l'exploitation lieu de l'étude .....	<b>37</b>
<b>Figure 9.</b>	Automates pour analyse hématologique de la formule normale sanguine (FNS).....	<b>40</b>
<b>Figure 10.</b>	Protocole de réalisation d'un frottis sanguin .....	<b>43</b>
<b>Figure 11.</b>	Technique de coloration des frottis sanguins à la MGG .....	<b>44</b>
<b>Figure 12.</b>	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	<b>45</b>

## Liste des abréviations

---

### Liste des abréviations

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**ARN**: acide ribonucléique

**CCMH**: concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

**CO2**: dioxyde de carbone

**EDTA**: Acide éthylène diamine tétra acétique

**GB** : globule blanc/ numération leucocytaire totale

**GR**: globule rouge/ numération des globules rouges

**Hb**: Hémoglobine

**HCT**: Hématocrite

**HGB**: Taux d'hémoglobine

**IDR**: indice de distribution des rouges

**IDP**: Indice de distribution des plaquettes

**Ig**: Immunoglobuline

**IFN** : Interféron gamma

**Lymph**: Pourcentage de lymphocytes

**LB**: Lymphocytes B

**LT**: Lymphocytes T

**LTh**: Lymphocyte T helper

**Mono** : Pourcentage de monocytes

**NFS**: Numération formule sanguine

**NK** : Lymphocyte natural kille

**O2** : Dioxygène (oxygène)

**pg** : Picogramme

**PLT**: Numération plaquettaire

**PNB**: Polynucléaire basophile/ pourcentage de polynucléaires basophiles

**PNE**: Polynucléaire éosinophile/ pourcentage de polynucléaires éosinophiles

## Liste des abréviations

---

**PNN:** Polynucléaire neutrophile/ pourcentage de polynucléaires neutrophiles

**PT:** Concentration en protéines totales plasmatiques

**SI:** Système international d'unités

**TCT:** Thrombocyte

**TGMH:** Teneur globulaire moyenne en hémoglobine

**VCE:** Volume de cellules empilées

**VGM:** Volume globulaire moyen

**VPM:** Volume plaquettaire moyen

### Résumé

L'objectif de cette étude était de déterminer les variations du profil hématologique de la vache durant les différentes périodes de la gestation; afin d'obtenir des informations sur les paramètres hématologiques qui seront des indicateurs de l'état de santé des bovins de la région Tiaret. L'analyse des prélèvements de sang effectués chez des vaches gestantes a montré que le nombre des globules blancs augmente avec l'avancement de la gestation à cause des troubles hormonaux. Concernant les globules rouges, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite, les résultats ont révélé une diminution avec l'âge et à la fin de gestation en raison de l'augmentation des besoins fœtaux en oxygène et en nutriments. Enfin ce travail a permis de constater que certains paramètres hématologiques chez les vaches gestantes variaient largement en fonction de l'âge, de la saison, et l'état de gestation.

**Mots-clés: Vache, Gestation, paramètres hématologiques, hématocrite.**

### Summary

The objective of this study was to determine the variations in the haematological profile of the cow during the different periods of gestation; in order to obtain information on the haematological parameters that will be indicators of the state of health of cattle in the Tiaret region. Analysis of blood samples taken from pregnant cows has shown that the number of white blood cells increases with the advancement of gestation due to hormonal disturbances. With regard to red blood cells, hemoglobin and hematocrit, the results showed a decrease with age and at the end of gestation due to the increased fetal oxygen and nutrient requirements. Finally, this work has shown that certain hematological parameters in pregnant cows vary widely depending on age, season, and state of gestation.

**Keywords: Cow, Gestation, hematological parameters, hematocrit.**

كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الاختلافات في المظهر الدموي للبقرة خلال فترات الحمل . على معلومات عن معايير الدم التي ستكون مؤشرات على الحالة الصحية للماشية في منطقة تيارت. أظهر تحليل عينات الدم المأخوذة من الأبقار الحامل أن عدد خلايا الدم البيضاء يزداد مع تقدم الحمل بسبب الاضطرابات الهرمونية. فيما يتعلق بخلايا ستوى الهيموجلوبين والهيماتوكريت ، فقد أظهرت النتائج انخفاضاً مع تقدم العمر وفي نهاية الحمل بسبب زيادة متطلبات الأكسجين والمغذيات لدى الجنين. أخيراً ، أظهر هذا العمل أن بعض المعلمات الدموية في الأبقار الحامل تختلف اختلافاً كبيراً حسب العمر والموسم وحالة الح .

الكلمات المفتاحية: معايير الدم ، الهيماتوكريت.

# *Introduction*

# INTRODUCTION

---

## Introduction

L'hématologie est littéralement la « science du sang ». C'est un domaine bien étudié et connu, tant en médecine humaine que vétérinaire. Il existe un grand nombre d'ouvrages et articles sur l'hématologie bovine dans la littérature scientifique. Cependant, les publications de référence sont assez vieilles. De plus, malgré le grand nombre de références disponibles et la disponibilité actuelle des analyseurs et microscopes dans les cliniques vétérinaires, l'hématologie est actuellement peu utilisée par les vétérinaires en pratique courante, **(Drieu, 2009)**.

Des paramètres hématologiques sont pris comme étant des indicateurs afin de ce formulé sur le bon déroulement de la gestation. La formule sanguine devient de plus en plus essentielle en médecine. La connaissance des valeurs sanguines de base aide le vétérinaire dans le diagnostic de certaines maladies, le pronostic, ainsi que dans les traitements utilisés pour l'amélioration de la production, et la reproduction des vaches, programme de prévention et de contrôle **(Zvorc et al, 2006 ; Iriadam, 2007)**.

Les études qui ont été faites au cours des dernières années montrent, que plusieurs facteurs peuvent influencer les paramètres sanguins chez les bovins, tels que la saison, la race **(Sawankumar et al, 2017)**, les facteurs environnementaux **(Titaouine et al, 2017)**, le stress **(Oramari et al, 2014)**, le système de production **(Antunovi et al, 2017)**, et le stade physiologique **(Stevanovi et al ,2015)**.

De ce fait, cette étude a pour objectif de déterminer les variations du profil hématologique de la vache durant la gestation.

*PARTIE I*  
*Etude bibliographique*

*CHAPITRE I*  
*PHYSIOLOGIE DU SANG*  
*CHEZ LES BOVINS*



## CHAPITRE I. PHYSIOLOGIE DU SANG CHEZ LES BOVINS

Le sang est un tissu composé de nombreux types cellulaires reposant sur une matrice Liquide de nature essentiellement protéique. Les cellules sanguines sont produites à L'origine dans la moelle osseuse. On distingue deux tissus cellulaires ; le tissu myéloïde et le Tissu lymphoïde (**Archer, 1977**).

Les cellules sanguines issues du tissu myéloïde sont fabriquées à partir de trois Lignées :

- la lignée érythroïde à l'origine des érythrocytes ou globules rouges,
- la lignée myélo-monocytaire qui donne les granulocytes et les monocytes,
- la lignée plaquettaire à l'origine des plaquettes (même si pour certains auteurs, les Plaquettes ne sont pas des cellules).

Les cellules issues du tissu lymphoïde sont les précurseurs de la lignée lymphoïde ; les Lymphoblastes. Ces cellules vont donner des lymphocytes qui sont le 4e et dernier élément Cellulaire présent dans le sang périphérique circulant.

Il est aussi possible de classer les différentes cellules sanguines selon leur activité. Les granulocytes, les monocytes et les lymphocytes composent la lignée blanche qui Correspond aux leucocytes. D'un autre côté, les érythrocytes représentent la lignée rouge Tandis que pour les plaquettes, on parle de la lignée plaquettaire.

Des valeurs de référence relatif à les paramètres hématologiques des bovins ont Été établies. Cependant, il existe de nombreuses discordances reliées à certaines variations Environnementales et physiologiques telles que l'alimentation, l'état d'excitation, l'activité Musculaire, la race, la lactation... L'âge semble jouer un rôle essentiel dans l'évolution des Références sanguines des bovins. L'ensemble de ces variations peut avoir une véritable Importance clinique et elles doivent être prises en compte dans l'analyse des résultats d'une NFS.

## I. Les différents constituants sanguins chez les bovins :

La structure des cellules sanguines peut être vue sur un frottis sanguin après l'avoir colorié. Les colorations de Romanowsky sont les mieux pour noter les cellules Sanguines. Romanowsky a usé en 1891 une combinaison d'éosine et de bleu de méthylène produisant un spectre de couleurs allant du bleu au rouge-orange dépendant du pH du contenu cellulaire. Les structures acides telles que l'ADN et l'ARN vont attirer les couleurs bleues les marquant alors d'une couleur bleue à pourpre tandis que les structures basiques vont attirer l'éosine qui colore les éléments en rouge. Nombreux colorations peuvent être ainsi utilisées. La coloration de Wright est une combinaison d'éosine et de bleu de 28 méthylène oxydé (teinte azure). Il existe aussi les colorations de May Grünwald Giemsa, de Wright-Giemsa et de Wright-Leishman (**Stockham, 2002**).

### I.1. Les érythrocytes

Principales cellules sanguines, les érythrocytes ou hématies sont fréquemment appelées les globules rouges. Leur basophilie va attirer l'éosine donnant leur couleur rose. Il existe une grande variation de taille des globules rouges chez les bovins mais le polymorphisme est faible sauf en cas d'anémie.

D'autre part, le transport de l'oxygène (O<sub>2</sub>) est fait grâce à une protéine particulière appelée hémoglobine (Hb). Les propriétés de l'hémoglobine associées au métabolisme érythrocytaire permettent la fixation de l'O<sub>2</sub> sur cette protéine. Cependant, les globules rouges restent sensibles aux oxydations et certaines carences alimentaires peuvent troubler le métabolisme érythrocytaire.

#### I.1.1. Morphologie

Un érythrocyte de bovin mesure entre 5 et 6 µm de diamètre (**Jain, 1986**). Il survit de 70 à 126 jours chez le veau âgé de 3 à 4 mois et environ 130 jours chez un bovin adulte (**Kramer, 2006**). Ces cellules spécialisées ont une apparence simple et

ronde au microscope optique mais plus complexe au microscope électronique. En réalité, les érythrocytes sont biconcaves. Par ailleurs, ces cellules ne sont pas nucléées chez les mammifères (**Archer, 1977**). En général, on dénombre entre 800 et 900 érythrocytes pour un leucocyte et environ 15 érythrocytes pour une plaquette (**Jain, 1986**).

La forme biconcave est commune à tous les mammifères (**Harvey, 1997**).

### **I.1.2. Rôles**

Les hématies assurent le transport de l'oxygène en provenance des poumons vers les autres Tissus et du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) en provenance des tissus vers les poumons.

### **I.1.3. Variations physiologiques et réaction en cas d'anémie**

Nombreux termes doivent d'abord être définis afin de mieux saisir le vocabulaire Spécifique de la description des érythrocytes (**Thrall, 2004**) :

**Anémie** : Une anémie correspond à une diminution du taux d'hémoglobine circulante par unité de volume sanguin à partir d'un seuil fixé en fonction de l'espèce animale (définition Biologique).

**Acanthocyte** : Hématie avec des spicules irréguliers, projetés de manière inégale sur la membrane cellulaire avec une longueur et un diamètre variable.

**Anisocytose** : Une anisocytose correspond à une inégalité de la taille et du diamètre des globules rouges.

**Macrocytose** : Présence d'hématies de grande taille. Ce sont le plus souvent des réticulocytes.

**Poikilocytose** : Présence d'hématies de formes très variées sur un frottis sanguin.

**Polychromasie** : Présence d'hématies larges et de couleur bleutée. Le plus souvent ce sont des réticulocytes qui ont été libérés rapidement.

**Réticulocyte** : Dernier stade cellulaire avant l'obtention d'une hématie mature. Cette cellule est le traceur sanguin le plus fiable de l'efficacité de l'érythropoïèse.

**Rouleaux de formation** : Empilement spontané des hématies les unes sur les autres. Leur apparence est similaire à un empilement de pièces.

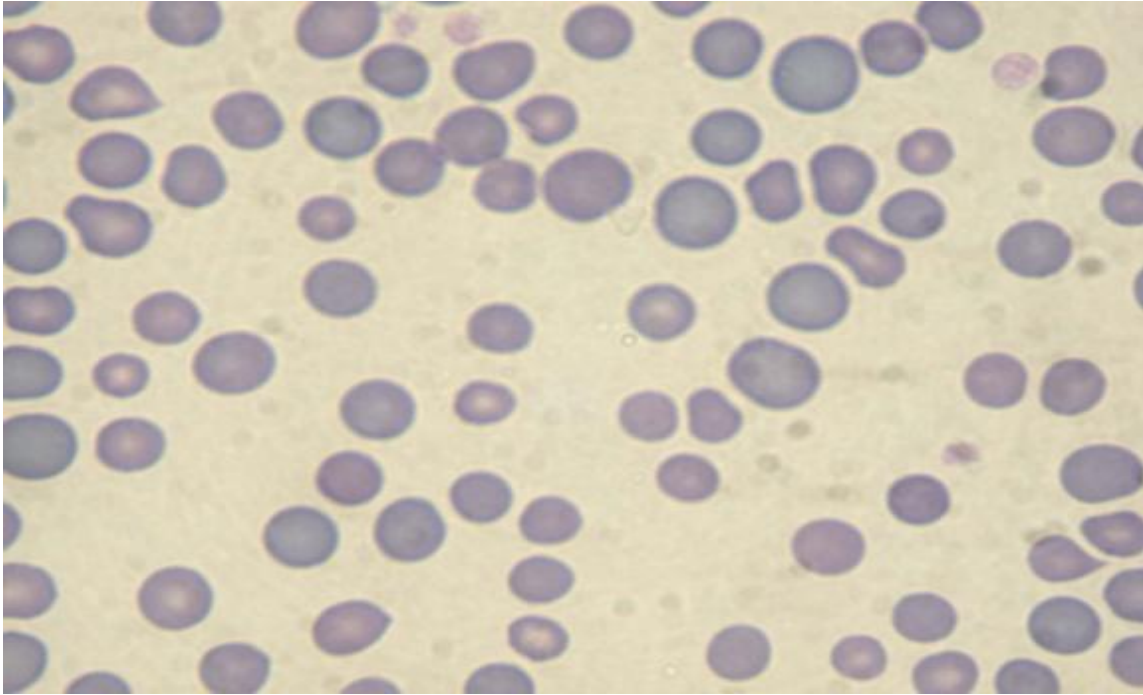
**Schizocyte** : Hématie ayant une forme bizarre et fragmentée due à une rupture mécanique de la membrane érythrocytaire lors de la traversée d'obstacles dans la lumière vasculaire.

**Sphérocyte** : Petite hématie ronde sans pâleur centrale due à une phagocytose partielle suite à la fixation d'anticorps ou du complément sur la membrane cellulaire. La présence de sphérocytes suggère une anémie hémolytique à médiation immune.

**Taux de sédimentation** : Aide au diagnostic et à l'évaluation d'un processus inflammatoire.

#### **I.1.3.1. Variation de la taille et stabilité en solution**

Certaines hématies peuvent avoir une taille jusqu'à deux fois supérieure aux érythrocytes normaux. Une anisocytose peut être regardée de façon physiologique et à faible degré lors de la lecture d'un frottis sanguin d'un bovin (Figure 1) (**Jain, 1986**).



**Figure 1** : Anisocytose érythrocytaire chez un bovin (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup).

En temps régulier, les érythrocytes possèdent une grande stabilité en suspension par leur petite taille et l'absence physiologique de rouleaux de formation (**Jain, 1986**). Aucun rouleau de formation ne doit être examiné lors de la lecture d'un frottis sanguin et le taux de sédimentation doit aussi rester faible. Cependant, une hyper fibrinogénémie peut entraîner l'apparition de rouleaux de formation et tend à élever le taux de sédimentation (**Jain, 1986 ; Kramer, 2006**).

### **I.1.3.2. Variations de la forme**

On ne remarque aucune variation de couleur des hématies chez un animal en bonne santé.

Néanmoins, lors d'une maladie, il est possible de voir des cellules de forme ronde et uniconcave à l'origine d'une poikilocytose. D'autres part, la présence d'acanthocytes ne

Semble pas usuelle chez un animal en bon santé mais elle peut être nécessitée à un artéfact manière lié à de l'étalement sanguin sur la lame porte-objet (**Kramer, 2006**).

Aucune cellule précurseur des hématies ne doit être observée sur un frottis sanguin. L'hémogramme ne doit pas révéler la présence d'érythrocytes nucléés ni de réticulocytes, sauf pendant la période de vie fœtale et les premiers jours de vie. Il n'y a donc pas de polychromasie normale chez les bovins adultes (**Kramer, 2006**).

### **I.1.3.3. Erythropoïèse et réaction en cas d'anémie**

L'érythropoïèse commence à partir de cellules souches pluripotentes. Ces cellules très immatures sont appelées des proérythroblastes. Elles se différencient rapidement en cellules nommées des rubricytes (ou érythroblastes) basophiles qui possèdent une chromatine grossièrement compacte et un cytoplasme bleu. Ensuite, les rubricytes basophiles deviennent des rubricytes (ou érythroblastes) polychromatophiles qui ont un cytoplasme gris. Enfin, ces derniers vont donner les métarubricytes (ou érythroblastes acidophiles) précurseurs des réticulocytes. La synthèse de l'hémoglobine débute très tôt lors de l'érythropoïèse. Cependant, celle-ci n'est appréciée qu'à l'étape des rubricytes polychromatophiles (**Jain, 1993**). La différenciation des proérythroblastes en réticulocytes, dans la moelle osseuse, dure entre 100 et 110 heures chez les bovins. Puis, la maturation des réticulocytes se déroule en 1 à 2 journées (**Jain, 1986**).

Lors d'une anémie sévère, l'organisme réagit en premier lieu par la libération rapide d'hématies immatures en provenance de la rate. Une réticulocytose se met progressivement en place avec un pic observable au bout de 4 à 7 jours seulement (**Arcangioli, 2008**). On observe alors une Macrocytose avec des hématies à ponctuations basophiles qui apparaissent dans le sang périphérique circulant. Ces ponctuations basophiles sont le signe d'une érythropoïèse accélérée (**Kramer, 2006**).

### **I.1.4. L'hémoglobine**

C'est une protéine qui possède un hème et qui représente 95% des protéines totales d'un érythrocyte. Elle joue un rôle essentiel dans la fixation de l'oxygène par les hématies.

L'hème possède un atome de fer qui interagit avec l'oxygène. Le métabolisme érythrocytaire maintient le fer à l'état ferreux lui permettant de fixer l'oxygène. Le fait que l'hémoglobine soit possédée dans une cellule lui permet d'avoir un meilleur temps de demi-vie par rapport à une libre circulation dans le sang (**Harvey, 1997**). D'autre part, l'hémoglobine a une structure basique qui attire l'éosine et est à l'origine de la coloration rouge-rosâtre des érythrocytes (**Stockham, 2002**).

#### **I.1.4.1. Les différents types d'hémoglobine**

Les tétramères peptidiques de l'hémoglobine sont formés de chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  dont l'examen permet de particulariser les bovins à l'échelle de l'individu et à l'échelle moléculaire. En effet, il existe un grand polymorphisme interspécifique, intraspécifique (variation entre les races). Et également intra-individuel (par les différentes hémoglobines) chez les ruminants. Ce polymorphisme est plus noté pour les chaînes  $\beta$ . À propos du polymorphisme interindividuel, trois types d'hémoglobines se succèdent : l'hémoglobine embryonnaire (HbE), l'hémoglobine fœtale (HbF) et l'hémoglobine adulte (HbA) (**Kramer, 2006**).

L'HbE possède une meilleure affinité pour l'oxygène que l'HbA. En effet, elle est adaptée à un gradient d'O<sub>2</sub> intra-utérin ou la pression partielle en oxygène (pO<sub>2</sub>) est faible tandis que l'HbA est-elle adaptée à un gradient extra-utérin ou la pO<sub>2</sub> est plus haute (**Harvey, 1997**). Le passage de l'hémoglobine embryonnaire à l'hémoglobine adulte débute *in utero* et peut durer plusieurs mois après la naissance. Cependant, cette modification n'est pas directe. L'hémoglobine fœtale s'intercale entre ces deux types d'hémoglobine. Tout comme l'HbE, l'HbF possède une affinité inhérente à l'oxygène afin de maintenir une pression en oxygène fœtale suffisante *in utero*. L'HbF remplace l'HbE *in utero* puis est graduellement remplacée par l'HbA (**Kramer, 2006**).

#### **I.1.4.2. Evolution des différents types d'hémoglobine**

L'HbE persiste quelque mois suite à la naissance (**Grimes, 1958**). Une étude a présenté qu'à la naissance, la concentration en HbF échangeait de 60 à 97% (moyenne à 89,2%) ainsi que la concentration en HbA alternait de 3 à 31 % (moyenne à 10,8%).

Cependant, la concentration en HbF chutait vite jusqu'à une valeur de moins d'1% à 23 semaines (**Lee et all ; 1971**).

### I.1.5. Le métabolisme érythrocytaire

#### I.1.5.1. Biochimie érythrocytaire

La consommation de glucose est de 0,6 à 0,7  $\mu$  mol/ml/h par globule rouge. Le glucose est la primordiale source d'énergie des érythrocytes par la glycolyse (95%). Cependant, la voie des pentoses phosphates peut aussi être une autre source d'énergie (5%) (**Jain, 1993**). Beaucoup de bovins ont une teneur plus faible en sodium ( $\text{Na}^+$ ) et plus forte en potassium ( $\text{K}^+$ ) dans leurs érythrocytes que dans leur plasma Une pompe membranaire énergie-dépendant maintient ce ratio  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  intra-érythrocytaire (**Harvey, 1997**).

#### I.1.5.2. Affinité pour le dioxygène

Lors de la fixation de l' $\text{O}_2$ , le fer à l'état ferreux dans l'oxyhémoglobine est continument oxydé en fer ferrique contenu dans la méthémoglobine. Cependant, il n'y a peu de méthémoglobine à l'état physiologique car celle-ci est rapidement diminuée par la NAD Hméthémoglobine-réductase, ce qui permet une nouvelle fixation du dioxygène (**Kramer, 2006**).

L'augmentation de la teneur en méthémoglobine est à l'origine de l'apparition de corps de Heinz. Les corps de Heinz correspondent à de petits granules présents en Périphérie des érythrocytes qui peuvent être protubérants dans la membrane cellulaire. Ces granules sont facilement observables par leur coloration bleutée en contraste avec le fond clair des hématies. Elles sont constituées d'agrégats d'hémoglobine dénaturée qui ont précipité. Les corps de Heinz sont notamment observés lors d'hémolyse intravasculaire avec hémoglobinurie et sont signes de toxicité cellulaire (**Jain, 1993**).



### I.1.5.3. Oxydation des érythrocytes

Les érythrocytes des bovins ne sont pas plus sensibles à l'oxydation que ceux des autres espèces. Cependant, des déséquilibres alimentaires peuvent être l'origine d'une méthémoglobinisation associée ou non à la formation de corps de Heinz et à l'arrivée d'une anémie hémolytique. Ceci est dû au métabolisme spécifique des ruminants et aux changements possibles de certaines substances non toxiques en substances toxiques par leur microflore digestive. Ainsi, quand les aliments possèdent une large teneur en nitrates ou en nitrates fertilisés, ceux-ci sont minimes par la microflore en nitrites qui, lorsqu'ils sont absorbés, oxydent l'oxyhémoglobine en méthémoglobine sans forcément créer des corps de Heinz. Des cas d'anémies hémolytiques ont notamment été rapportés lors d'intoxication au cuivre, aux crucifères, au sélénium et à l'eau (**Kramer, 2006**).

Les leucocytes composent la 2<sup>e</sup> catégorie de cellules examinées sur un frottis sanguin. On en distingue deux types : les polynucléaires et les cellules mononuclées. Les polynucléaires ont un noyau à plusieurs lobes. Il en existe trois sous-types : les polynucléaires neutrophiles (PNN), les polynucléaires éosinophiles (PNE) et les polynucléaires basophiles (PNB).

## I.2. Les polynucléaires neutrophiles

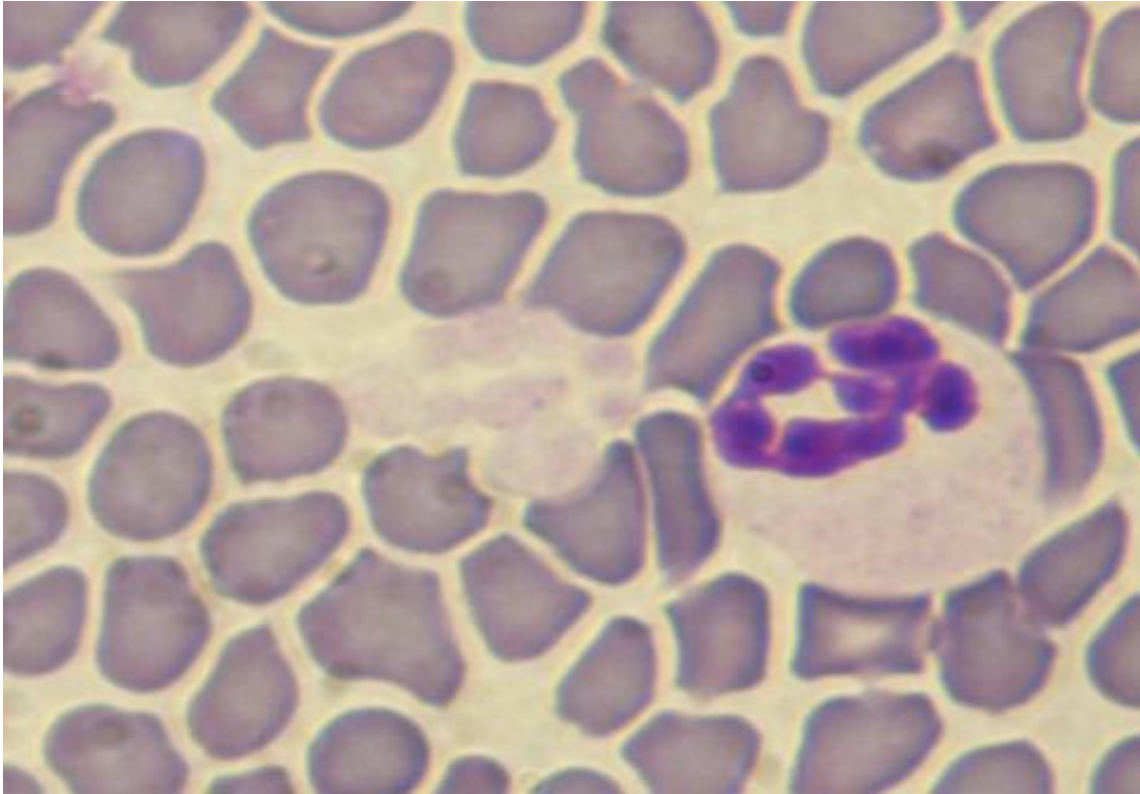
Les polynucléaires neutrophiles sont les essentiels représentants des granulocytes. Ils circulent une dizaine d'heures dans le sang et peuvent survivre 1 à 4 jours dans les tissus (**Smith, 2006**).

### I.2.1. Morphologie

#### I.2.1.1. Le polynucléaire neutrophile mature

Les neutrophiles matures ont une taille allant de 10 à 15  $\mu\text{m}$  avec une moyenne à 11,5  $\mu\text{m}$ . Le noyau est lisse mais la membrane est irrégulière avec la présence de points partiels d'excroissance sans que ce ne soient de réelles formations filamenteuses (Figure 2). Le cytoplasme contient de nombreuses granules rosâtres, semblables à des grains de poussière, pouvant apparaître aussi rougeâtres selon les conditions de coloration (**Jain, 1986**). Ces granules contiennent différentes substances biochimiques et sont séparées soit en granules azurophiles soit en granules spécifiques (**Jain, 1993**).

Contrairement aux animaux domestiques, les polynucléaires neutrophiles des ruminants contiennent un troisième type de granules qui confère au polynucléaire neutrophile son cytoplasme éosinophile. Ce granule est plus large que les deux autres et possède une activité antimicrobienne plus élevée que les granules présentes chez d'autres mammifères domestiques (**Kramer, 2006**).



**Figure 2** : PNN mature chez un bovin (à droite) (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup)

#### I.2.1.2. Les polynucléaires neutrophiles immatures

##### I.2.1.2.1. Le neutrophile non segmenté (« band neutrophile »)

Le neutrophile non segmenté possède un noyau à une seule bande (**Jain, 1986**). C'est une cellule immature des fois observée dans le sang périphérique circulant des bovins en temps normal. Son noyau est plus condensé que celui du neutrophile mature. La membrane nucléaire est lisse sur toute sa longueur sans aucune constriction. Le cytoplasme est équivalent à celui du neutrophile mature. L'observation de ce genre de PNN dans le sang périphérique circulant est le signe d'une infection sévère avec neutropénie. L'organisme n'a plus le temps de régénérer ces neutrophiles et des cellules immatures sont libérées dans le sang (**Jones, 2008**).

#### I.2.1.2.2. Le métamyélocyte

Celui-ci n'est pas observé dans le sang périphérique circulant d'un bovin adulte en bonne santé (**Jain, 1986**). Le noyau est petit et condensée avec des indentations variables et peut parfois avoir une forme de haricot. La membrane nucléaire est lisse. Le cytoplasme tend à être bleuâtre et possède moins de granules que le cytoplasme d'un neutrophile mature.

### I.2.2. Rôles

Ces cellules possèdent une forte activité phagocytaire surtout lors d'infection bactérienne (**Archer, 1977**). Les granules neutrophiles jouent un rôle important dans la défense antibactérienne. La phagocytose et les voies oxydatives sont les fonctions les plus importantes et essentielles dans l'élimination des bactéries invasives (**Kampen, 2006**). Les PNN peuvent phagocyter les cellules ou les débris cellulaires, même si cette action est surtout effectuée par les monocytes sanguins. Les PNN sont aussi capables de phagocyter des champignons, des levures, des algues, des parasites et des virus (**Smith, 2006**).

Enfin, ils peuvent assister à la cytotoxicité à médiation cellulaire anticorps-dépendante (ADCC) ou libérer diverses cytokines intervenant dans la régularisation de la réaction inflammatoire ou dans l'élimination de cellules tumorales. Néanmoins, les cytokines peuvent aussi avoir un effet cytotoxique et causer des dommages tissulaires (**Jain, 1993 ; Smith, 2006**).

## I.3. Les polynucléaires éosinophiles

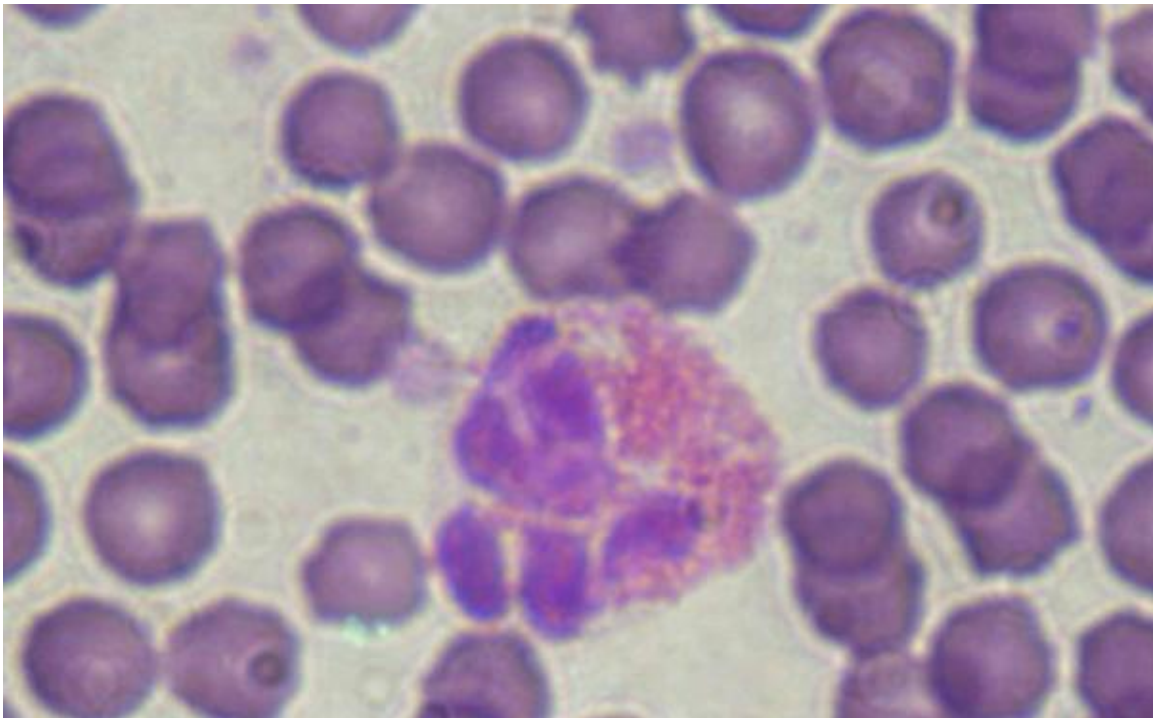
Les PNE sont le deuxième type de granulocytes à présent dans le sang périphérique circulant.

Le terme éosinophile - qui aime l'éosine -est lié au caractère basique de ce type de polynucléaires. Ces cellules sont plus simplement reconnaissables que les PNN au microscope optique. Leurs granules vont attirer l'éosine et les PNE ont une couleur qui varie du rouge orangé au rose (**Stockham, 2002**). La présence de PNE en grande quantité dans le sang est associée à des conditions spécifiques d'état de l'organisme.

Ces cellules peuvent persister jusqu'à 6 jours dans les tissus mais ne circulent que quelques heures dans le sang (Young, 2006).

### I.3.1. Morphologie

La taille moyenne d'un PNE varie de 13 à 14  $\mu\text{m}$  mais certaines cellules peuvent mesurer jusqu'à 15  $\mu\text{m}$  (Figure 3). Il est identifiable par ces nombreuses petites granules réfractaires, rondes, ressemblant à des diamants, intensément rouges et de taille uniforme. Elles remplissent le cytoplasme et peuvent recouvrir le noyau (Jain, 1986). Ces granules sont appelées granules homogènes et elles sont les seules granules présentes chez les bovins tandis qu'un autre type de granules, appelées granules cristalloïdes, peuvent être observées dans d'autres espèces (Jain, 1993). Un cytoplasme bleu clair est parfois visible. Les PNE sont légèrement plus larges que les PNN mais ils ont un noyau moins segmenté. Le noyau peut être bilobé mais il a plus communément une forme de bande (Young, 2006).



**Figure 3** : Polynucléaire éosinophile chez un bovin adulte (D'après Pathologie du bétail, Vet Agro Sup).

### I.3.2. Rôles

Le nombre d'éosinophiles augmente lors de la libération de l'histamine, qui attire ces cellules par chimiotactisme. Ils peuvent aussi être attirés par un autre médiateur chimique lorsque l'histamine est déjà libérée en masse dans les tissus (**Archer, 1977**). Le rôle principal des éosinophiles est de limiter et de modifier les effets attribués à la libération de facteurs inflammatoires et allergiques (histamine, bradykinine...) (**Jain, 1993**). Chez les bovins, une éosinophilie peut résulter d'une migration parasitaire, d'une pneumonie interstitielle, d'un emphysème pulmonaire aigu ou d'une formation d'auto-anticorps contre leur propre lait chez des vaches laitières. On note aussi que les bovins ont un nombre plus élevé de polynucléaires éosinophiles que les autres espèces (**Jones, 2008**).

Leur rôle antiparasitaire contre les helminthes est aussi connu (**Young, 2006**). Les PNE participe aussi la coagulation et la fibrinolyse par l'activation respectivement du facteur XII et du plasminogène. Cependant, les éosinophiles peuvent causer (tout comme les neutrophiles) des dégâts tissulaires, par la production de l'anion super oxyde qui se retrouve en plus grande quantité dans les PNE que dans les PNN (**Jain, 1993**). Les PNE sont notamment connus pour être les effecteurs majeurs de dommages tissulaires dans la phase tardive des maladies allergiques telles que l'asthme (**Young, 2006**).

Enfin, Ils interviennent dans la destruction des cellules tumorales mais le mécanisme reste peu clair. Leur rôle dans la phagocytose et l'activité bactéricide est limité mais ils peuvent phagocyter des complexes immuns, des granules mastocytaires, des levures, des bactéries, des mycoplasmes et des anticorps liés aux érythrocytes. Ils participent aussi à la mise en place de l'immunité à médiation cellulaire par la présentation des antigènes (Ag) aux LT (**Young, 2006**).

### **I.4. Les polynucléaires basophiles**

Le PNB est le troisième granulocyte visible dans le sang périphérique circulant. Le terme basophile - qui aime les bases - est associé au caractère acide de ces polynucléaires qui ont une couleur bleue voire pourpre dans la plupart des colorations sanguines (**Stockham, 2002**). Cependant, bien qu'il soit décrit dans la littérature, ce genre de polynucléaires reste très rarement observé dans le sang périphérique circulant des bovins. Ils circulent environ 6 heures dans le sang mais peuvent perdurer jusqu'à 2 semaines dans les tissus (**Stockham, 2006**).

#### **I.4.1. Morphologie**

Leur taille varie entre 11 et 14  $\mu\text{m}$ . Le PNB apparaît comme une grosse granule sombre car le noyau est masqué par les multiples petites granules intensément bleues. Ainsi, la véritable forme du noyau n'est pas réellement visible (**Jain, 1986**).

#### **I.4.2. Rôles**

Les PNB contiennent de l'histamine et de l'héparine ainsi que d'autres médiateurs inflammatoires. Lors de leur dégranulation, l'histamine, l'héparine et les médiateurs Inflammatoires sont ainsi libérées (**Stockham, 2006**). Leur fonction est quasi similaire à celle des mastocytes car ces cellules possèdent des similarités dans leurs constituants biochimiques.

Le nombre de basophiles augmente donc lors de dermatose allergique ou lors de réaction d'hypersensibilité (**Jones, 2008**). En fonction du médiateur sécrété, les PNB peuvent inhiber ou promouvoir l'hémostase. En effet, l'héparine a des propriétés anticoagulantes tandis que les kallikréines sont des protéases à propriétés procoagulantes. Les PNB peuvent aussi provoquer une hémolyse suite à l'activation de la lipoprotéine lipase par l'héparine (**Stockham, 2006**).

Les cellules mononuclées sont constituées de lymphocytes et de monocytes. On différencie deux sous-types des lymphocytes : les lymphocytes T (LT) et les lymphocytes B (LB). Les monocytes restent peu longtemps dans le sang périphérique circulant et migrent rapidement vers les autres tissus.

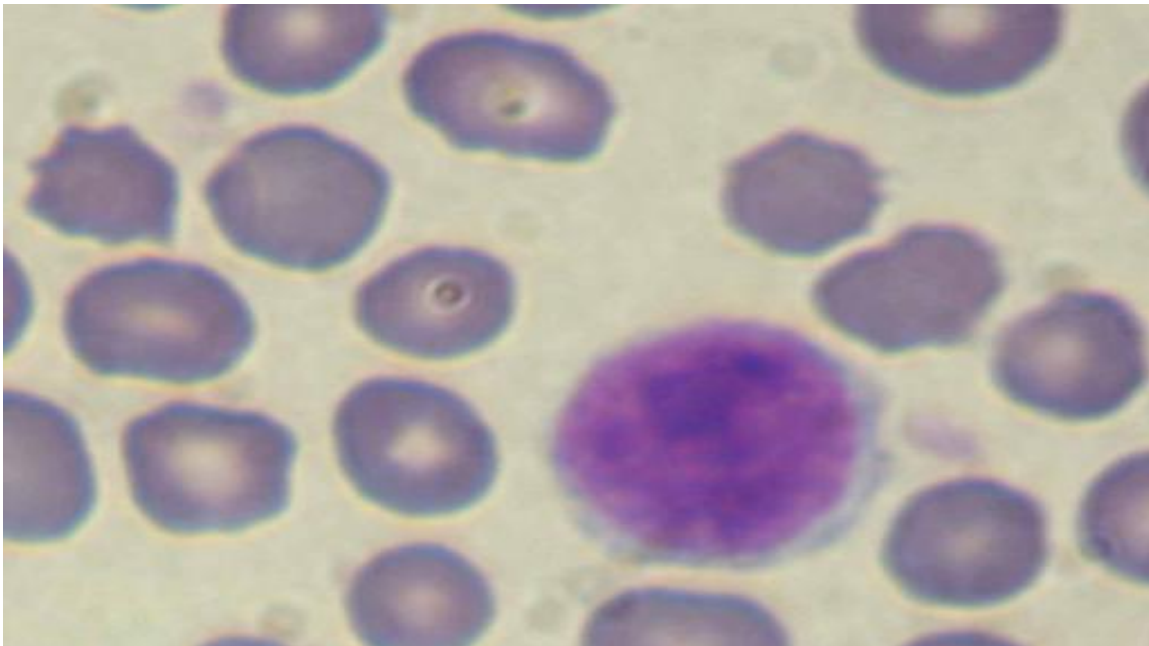
## I.5. Les lymphocytes

Les lymphocytes sont les leucocytes majeurs chez le bovin et peuvent représenter 70 à 80% des leucocytes. Leur taille varie de 8 à 15  $\mu\text{m}$  de diamètre selon qu'ils soient petits, moyens ou grands. Leur nombre diminue avec l'âge, ce qui a une influence notable dans le diagnostic clinique d'états préleucémiques ou leucémiques (**Jain, 1986**). Par ailleurs, Il existe deux lignées de même morphologie originaires de la moelle osseuse : les lymphocytes T et les lymphocytes B. La moelle osseuse n'est qu'un organe lymphoïde primaire dans la synthèse des lymphocytes. La maturation des lymphoblastes se déroule dans les organes lymphoïdes secondaires (la rate, les ganglions lymphatiques et la muqueuse digestive). La multiplication et la différenciation des lymphocytes s'effectuent suite à une stimulation antigénique (**Tizard, 2009**).

### I.5.1. Morphologie

#### I.5.1.1. Les petits lymphocytes

Les petits lymphocytes ont un noyau rond et avec de la chromatine dense qui remplit presque intégralement la cellule. De ce fait, le cytoplasme est peu abondant (Figure 4). La clarté du cytoplasme et la densité de la chromatine suggèrent que ce type de lymphocyte est métaboliquement dormant ou moins actif que les deux autres formes (**Jain, 1986**).



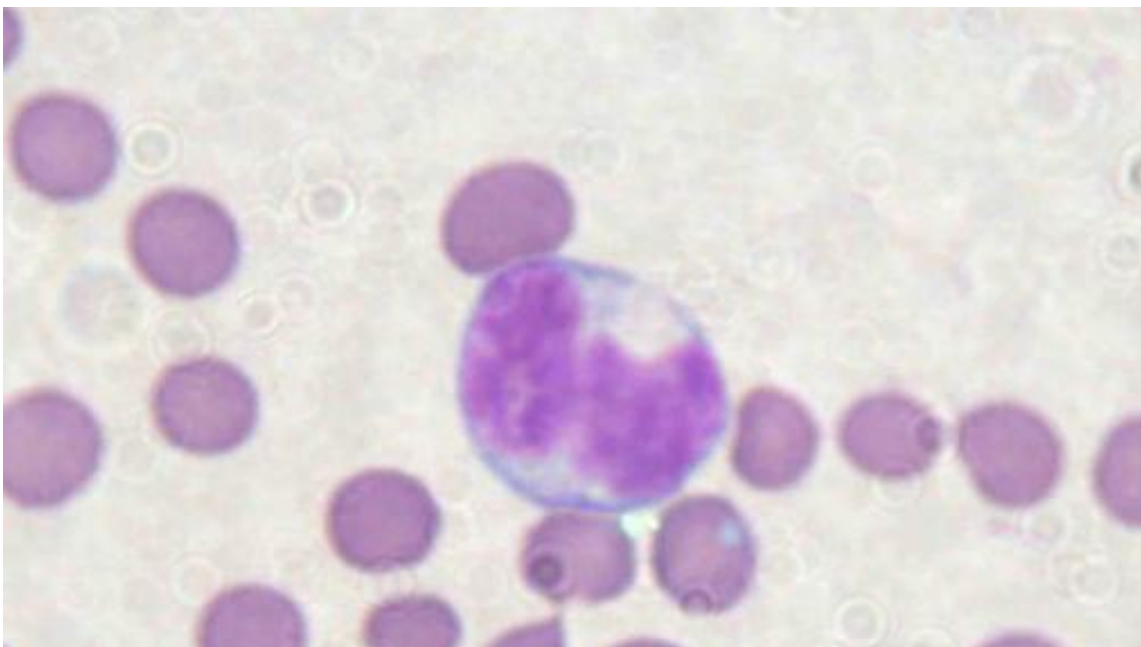
**Figure 4** : Petit Lymphocyte chez un veau (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup)

### I.5.1.2. Les lymphocytes moyens

Leur noyau est plus clair et contient des zones sombres de chromatine dense séparées par des zones plus claires de parachromatine. Le noyau est rond et peu présenter une légère indentation. Le cytoplasme est étroit sur un côté mais il semble plus grand de l'autre. Ceci est dû à la localisation excentrée du noyau qui répartit inégalement le cytoplasme. Ce dernier est en général bleu pâle avec une coloration plus sombre en bordure. Il est aussi plus abondant que celui des petits lymphocytes.

### I.5.1.3. Les grands lymphocytes

Les grands lymphocytes sont aussi appelés lymphocytes de transition car ils peuvent être confondus avec les monocytes. Le noyau semble plus clair ainsi que le cytoplasme qui est encore plus abondant. Le noyau contient des zones de chromatine moyennement compacte bien que des zones plus sombres puissent apparaître. Il est en général rond et est excentré par rapport à la cellule. Certains grands lymphocytes peuvent présenter un noyau en forme de haricot ou possèdent un noyau qui présente un sillon profond, qui tend à le diviser en Deux lobes (Figure 5).



**Figure 5** : Grand Lymphocyte chez un bovin adulte (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup)



La cellule de Rieder est une cellule possédant un noyau à forme particulière. Celle-ci est observée lors de leucémie. Le cytoplasme bleu pâle entoure complètement le noyau qui contient parfois des petites vacuoles rondes. Une observation occasionnelle d'un lymphocyte avec un nucléole ou des semblants de nucléoles ne doit cependant pas forcément aboutir au diagnostic d'une leucémie car de tels lymphocytes peuvent être présents chez un animal en bonne santé. Il est aussi possible de voir des grands lymphocytes avec des granules azurophiles qui varient en taille, en forme, et en nombre. Ces granules sont souvent regroupés et ne sont pas réparties de manière homogène dans le cytoplasme. Cependant, ce type de lymphocytes est rare.

### I.5.2. Rôles

#### I.5.2.1. Le lymphocyte T

Les Lymphocytes T sont thymus-dépendants et ils jouent un rôle dans l'immunité à médiation cellulaire. Ils vont d'abord subir une différenciation dans le thymus avant d'atteindre les organes lymphoïdes périphériques ou secondaires. Ils sont notamment logés dans les zones T appelées zones corticales profondes ou par corticales des ganglions lymphatiques. Les LT peuvent être classés soit selon leur marqueur (CD4+/CD8+), soit selon leur fonction. Ils sont ainsi (classement selon la fonction) :

- *Des LT effecteurs* qui recrutent les cellules effectrices de la réponse inflammatoire non spécifique (les macrophages et les PNN) par la sécrétion de cytokines et de lymphokines.

- *Des lymphocytes auxiliaires ou helper (LTh)* majoritairement des CD4+, chefs d'orchestre de la réponse inflammatoire.

Leurs rôles sont de recruter les cellules lymphocytaires (les LT effecteurs, les LT killer et les LB) et de sécréter des cytokines et des lymphokines activatrices de l'immunité (Interleukine2 par le LTh1 notamment).

Il existe deux sous-populations de LTh :

- *Les LTh1* qui induisent une immunité à médiation cellulaire et qui jouent un rôle dans l'hypersensibilité retardée ou de type IV,
- *Les LTh2* qui induisent une immunité à médiation humorale et qui jouent un rôle dans l'hypersensibilité immédiate ou de type I.

- *Des LT supresseurs* (majoritairement CD8+) qui sécrètent des cytokines inhibitrices de l'immunité en régulant négativement la réponse inflammatoire. Ils évitent que celle-ci ne s'emballe ou ne dépasse l'équilibre homéostatique.

- *Des LT killer (LTK) ou cytotoxique* (majoritairement des CD8+) qui sont anticorps dépendants. Ils provoquent la cytolyse ou induisent l'apoptose des cellules infectées par des micro-organismes intracellulaires ou des cellules du non soi. Le mécanisme associé est appelé l'ADCC.

Les LT K sécrètent aussi des cytokines (notamment les interférons gamma ou IFN $\gamma$ ). Ils sont activés par les IFN $\gamma$  et les LTh via le CMHI-Ag. Les IFN $\gamma$  recrutent l'ensemble des cellules cytotoxiques : les cellules K et les cellules natural killer (NK).

- *Des Natural Killer (NK)*, ce type de lymphocytes est anticorps-indépendant. Ils tuent la cellule cible par contact direct avec sa membrane (le mécanisme reste encore inconnu). D'autre part, Les NK jouent aussi un rôle dans la surveillance immunitaire.

- *Des LT mémoires*. Il existe un pool de lymphocytes sanguins circulants constitués majoritairement de lymphocytes de cette lignée (mais pouvant aussi être des lymphocytes B) qui permettent une redistribution des cellules lymphoïdes dans l'organisme. Ce sont soit des CD8+ ou des CD4+ et ils sont capables d'induire une réponse inflammatoire en 48 heures au lieu de 3 semaines lors d'un premier contact avec un organisme étranger.

D'autre part, il existe une autre catégorie de lymphocytes présents en grand nombre chez les jeunes ruminants et qui peuvent atteindre jusqu'à 60% des lymphocytes chez le veau nouveau-né : ce sont les  $\gamma\delta$ lymphocytes ( $\gamma\delta$ LT, le classement est réalisé ici selon le marqueur). Ces lymphocytes peuvent reconnaître de nombreux antigènes ce qui suggère qu'ils jouent un rôle dans l'immunité acquise. Les  $\gamma\delta$ LT colonisent la peau, la glande mammaire et la barrière intestinale et représentent la majeure partie des lymphocytes du jeune bovin. Cependant, la fonction précise de ce type de lymphocytes reste une énigme du fait qu'il existe une grande divergence de fonctions selon l'espèce (l'homme, les bovins, la souris et le porc) (Tizard, 2009).

### I.5.2.2. Le lymphocyte B

Ces lymphocytes jouent un rôle dans l'immunité à médiation humorale et gagnent directement les organes lymphoïdes périphériques après leur maturation dans la moelle osseuse. Ils sont notamment logés dans les zones B appelées zones corticales superficielles tandis que les cellules matures ou plasmocytes sont concentrés dans les zones B médullaires.

Leur nombre augmente lors de certaines infections virales ou certaines maladies chroniques.

Ceux-ci sont donc associés à la production d'anticorps. Les LB produisent d'abord des immunoglobulines M (IgM) lors du premier contact avec un antigène puis des IgG. Suite à la présentation de l'antigène par les LTh, les LB s'activent et se différencient en plasmocytes.

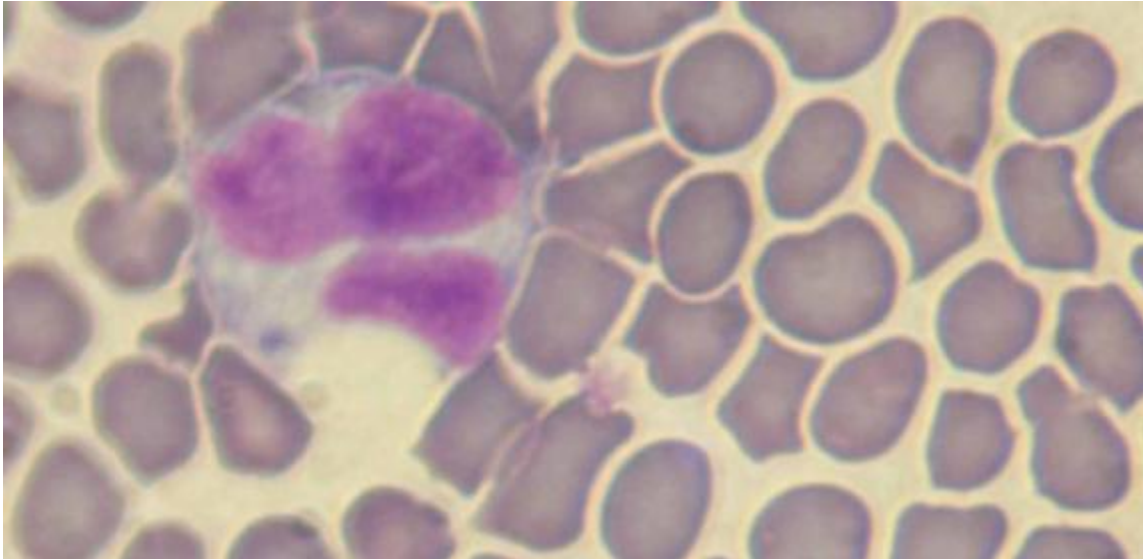
D'autre part, les LB activés peuvent aussi jouer le rôle de cellules présentatrices d'antigènes.

## I.6. Les monocytes

Dérivant de la lignée myélo-monocytaire dans la moelle osseuse, les monocytes peuvent aussi se retrouver dans d'autres tissus où ils sont appelés les macrophages. Le temps de demi-vie des monocytes dans le sang est de 20 à 23 heures. La survie des macrophages dans les tissus est inconnue mais semble longue sauf pour les macrophages qui répondent à une stimulation inflammatoire aiguë (**Bienzle, 2006**).

### I.6.1. Morphologie

Leur taille varie de 13 à 19  $\mu\text{m}$  avec une moyenne à 16  $\mu\text{m}$ . leur forme alterne de ronde à alambiquée, cette dernière forme étant la plus commune (Figure 6). La chromatine est souvent ficelée mais des zones plus sombres peuvent aussi être présentes. Le cytoplasme est plus sombre que celui des lymphocytes mais aussi plus granuleux. On observe des petits et fins granules non distincts ayant une coloration azurophile à éosinophile. Elles donnent au cytoplasme une couleur inégale presque rosée. Il est aussi possible d'observer des vacuoles plus nombreuses et moins régulières en taille que celles vues dans certains lymphocytes (**Jain, 1986**).



**Figure 6 :** Monocyte chez un veau (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup)

### **I.6.2. Rôles**

Ce sont des cellules phagocytaires qui assurent notamment la destruction des débris tissulaires ; on parle de rôle d'éboueur. Elles sont souvent associées à des désordres Chroniques reliés à certaines maladies virales (**Archer, 1977**). Les monocytes participent aussi à la réponse immunitaire par la présentation des antigènes aux cellules lymphoïdes suite à la phagocytose des éléments du non soi par élimination directe des antigènes après opsonisation des anticorps ou du complément lié aux antigènes. Les monocytes sécrètent aussi des cytokines et participent à la régulation de l'inflammation (**Jain, 1993**).

Néanmoins, ces cellules tendent à disparaître lors de la phase aiguë d'une infection. S'ils réapparaissent, c'est un signe de processus chronique. Leur nombre peut aussi augmenter lors d'une hémolyse, lors d'un facteur de stress ou lors d'une nécrose tissulaire afin d'éliminer les débris tissulaires. Un faible nombre peut être associé à une endotoxémie ou à une virémie (**Jones, 2008**).

Un dernier constituant autre que les cellules de la lignée rouge et de la lignée blanche est présent dans le sang. Ce sont les plaquettes issues de la lignée plaquettaire. Peu actives en temps normal, elles interviennent principalement lors de lésions de la paroi des vaisseaux sanguins.

## **I.7. Les plaquettes**

Il existe une controverse à savoir si les plaquettes sont des cellules ou des fragments de cellules. Néanmoins, ces éléments sanguins jouent un rôle très important dans l'intégrité vasculaire et dans le maintien de l'homéostasie (**Archer, 1977**).

### **I.7.1. Morphologie**

Souvent petites, elles peuvent aussi avoir la taille d'un érythrocyte, on exprime alors de plaquettes géantes. Elles apparaissent rassemblées en petit ou grand nombre et sont superposées entre les érythrocytes. L'apparence ordinaire des plaquettes ressemble à une rosette de grains pourpres-rougeâtres avec un cytoplasme bleu clair contenu dans une fine membrane. Le temps de survie normal d'une plaquette est de 10 jours (**Jain, 1986**).

### **I.7.2. Rôles**

Formées à partir des mégacaryocytes dans la moelle osseuse, elles s'agrègent lors d'un trouble de la circulation sanguine afin de stopper l'endothélium lésé. En effet, la fonction primaire des plaquettes est l'hémostase. Il sa conformation alors un caillot flexible commun avec les facteurs de coagulation dans le but d'arrêter une intégrité du système circulatoire (**Archer, 1977**).

Cependant, les plaquettes possèdent aussi d'autres fonctions telles que leur rôle dans la thrombo-embolie par la régulation de la formation du thrombus et le contrôle de la thrombolyse. Elles participent aussi à la réponse inflammatoire par l'activation de substances chimiotactiques, le largage de protéines cationiques et d'amines vasoactives. Elles jouent aussi un rôle dans la phagocytose de petites particules et bactéries. Enfin elles ont une action dans l'athérosclérose et dans la mise en place de tumeurs métastatiques.

En effet, les plaquettes jouent un rôle dans la séquestration, l'adhérence et la pénétration des cellules tumorales dans l'endothélium vasculaire (**Jain, 1993**).

Des éléments non cellulaires sont aussi présents dans le sang et entrent dans la composition du fluide matriciel. Les protéines totales constituent l'un des composants principaux de ce fluide dont le rôle est important dans le maintien de la pression sanguine.

## **I.8. Variations des paramètres hématologiques en fonction de facteurs physiologiques**

### **I.8.1. Influence de la race sur l'hémogramme des bovins adultes**

De nombreuses études ont montré des particularités reliées à la race (**Greatorex, 1957 ; Fisher, 1980 ; Penny, 1966 ; Granzien, 1968 ; Wingfield et Tumbleson, 1973 ; Chevrier, 1972 ; Ryan, 1973 ; Ryan, 1971**). Les races laitières ont moins de leucocytes, d'érythrocytes et de protéines plasmatiques que les races allaitantes (**Kramer, 2006**).

### **I.8 .2. Influence de l'âge sur la composition du sang**

De nombreuses études ont autorisé de montrer qu'il y a un changement des valeurs hématologiques des bovins en fonction de leur âge. Je vais décrire ces variations pour chaque lignée sanguine en séparant les distinctes classes d'âge. J'ai distingué les Variations chez le fœtus, le veau âgé de moins d'une semaine, le veau jusqu'à 3 mois, le Jeune bovin âgé de 2 à 4 ans et enfin le bovin adulte.

Les variations des paramètres de l'érythrogramme se développent surtout les premiers mois de vie.

#### **I.8 .2.1. Variations de l'érythrogramme**

##### **II.2.1.1. Modifications des paramètres érythrocytaires au cours de la Gestation**

Avant 40 jours de gestation, on ne regarde que des cellules immatures périphérique circulant des embryons (**Schultz et Dunne, 1971**). Les premiers érythrocytes sont donc clairs qu'à partir de 40 jours de gestation et leur nombre agrandis jusqu'à la naissance. D'autre part, à partir de 250 jours de gestation on ne voit quasiment plus de rubricytes (**Hubbert et al, 1971**) ont trouvé que le nombre d'érythrocytes augmentait de manière significative ( $p < 0,01$ ) de  $3,84$  à  $8,29 \times 10^6/\text{cm}^3$  sur une période suivie entre le 100<sup>e</sup> et le 120<sup>e</sup> jour de gestation jusqu'aux alentours du terme. La concentration en hémoglobine s'élevait aussi légèrement de  $12,57$  à  $14,90$  g/dl au cours de cette même période tandis que le nombre de réticulocytes diminuait significativement ( $p < 0,01$ ) de  $9,2\%$  à  $0$ .

#### **I.8 .2.2. Variations des thrombocytes**

Les paramètres plaquettaires semblent moins changer avec l'âge de l'animal même si le nombre de plaquettes agrandis les deux premières semaines de vie jusqu'à précéder la valeur optimale de référence des bovins adultes.

- Modifications au cours de la vie embryonnaire :

D'après. (Hubbert *et al.*,1971) il n'y aucune influence du stade de gestation sur le développement plaquettaire. Winquist a trouvé un nombre de 500 000 plaquettes/ $\mu$ l chez 14 fœtus (Jain, 1983).

- Evolution lors des premiers mois de vie :

Les plaquettes augmentent vite dès le premier jour de vie. Cette augmentation Plaquettaire dure environ deux semaines puis leur nombre se stabilise. En général, ce nombre est supérieur à la valeur maximale de référence des bovins adultes (Egli et Blum, 1998 ; Knowles *et al.* 2000 ; Brun-Hansen *et al.*2006).

D'après (Greatorax, 1957), les plaquettes des jeunes veaux sont plus facilement reconnaissables que celles des adultes car elles sont plus larges. (Mohri *et al.*2007) ont démontré que le nombre de plaquettes augmentait significativement d'environ 310 à 600 x 10<sup>9</sup>/l (p<0,001) entre le 1<sup>er</sup> et le 14<sup>e</sup> jour de vie puis il se stabilisait. Pour (Egli *et al.* 1998), cette augmentation ne se déroulait que la première semaine tandis que pour (Knowles *et al.* 2000), elle a eu lieu la deuxième semaine. Par la suite, la numération plaquettaire restait au-dessus des valeurs de références pour ces deux auteurs (valeur stable à environ 1050 plaquettes x 10<sup>9</sup>/l entre le 10<sup>e</sup> et le 84<sup>e</sup> jour pour Egli *et al.*). (Brun-Hansen *et al.*2006) ont aussi noté que la numération plaquettaire restait au-dessus de la valeur maximale de l'intervalle de référence des bovins adultes jusqu'entre la 19<sup>e</sup> et la 21<sup>e</sup> semaine. Cependant, ces auteurs ont remarqué une grande variation interindividuelle. Le nombre de plaquettes variait dans leur étude de 518 à 987 x 10<sup>9</sup>/L. En conclusion, la raison de cette augmentation plaquettaire ne semble pas claire car la formation de plaquettes à partir des mégacaryocytes n'était pas directement reliée à la naissance.

- Modifications plaquettaires à l'âge adulte :

Le nombre de thrombocytes n'échange pas trop avec l'âge, ni en activité des saisons, même si un comptage plus grand a été retrouvé au printemps et pendant l'été chez des animaux âgés de 8 à 12 ans.

### I.8 .2.3. Variations des protéines totales

Les substances du fluide matriciel vont aussi évoluer avec le vieillissement de l'animal. Nous intéresser à l'évolution de la concentration en protéines totales sans préciser l'évolution de chaque fraction protéique.

L'évolution de la concentration en protéines totales va être très notée par la

prise du colostrum la première semaine de vie. La concentration en Ig va élever tandis que la concentration en albumine va d'abord réduire avant de croître par la suite par synthèse hépatique.

#### I.8.2.3.1. Variation des protéines totales lors de la gestation

La concentration en protéines totales est faible pendant la vie fœtale et à la naissance. La présence d'albumine, d' $\alpha_1$ globulines et  $\beta$ globulines (probablement la transferrine) a été détectée dans le sérum de fœtus âgés de 59 jours par électrophorèse. Au 65<sup>e</sup> jour de gestation, on détecte aussi une  $\alpha_2$ macroglobuline. A partir du 175<sup>e</sup> jour de gestation, les protéines totales ont des valeurs quasi identiques à celles des adultes sauf pour les  $\gamma$  globuline (**Schultz et Dunne, 1971**).



# *Chapitre II*

*Propédeutique des différents  
paramètres sanguins*

### **Chapitre II. Propédeutique des différents paramètres sanguins**

Les références établies pour compter les constituants sanguins représentent l'hémogramme. Ce chapitre tend à montrer l'intérêt des paramètres sanguins dans l'interprétation des résultats d'une analyse. Je vais détailler chacune des références hématologiques en les rassemblant selon la lignée rouge, blanche ou plaquettaire, puis les différentes méthodes de mesure liées à celles-ci. Ensuite, j'évoquerai les erreurs de mesure qui peuvent être rencontrées en fonction de la technique de prélèvement ou d'analyse.

#### **II.1. L'érythrogramme = mesure des paramètres de la lignée rouge**

Un système international d'unités a été adopté en 1960 pour terminer les confusions concernant l'interprétation des résultats entre les différents laboratoires (Jeffcott, 1977). Ces unités ont été reprises par la suite et mises à jour (Stockham, 2008). Les unités que je vais mentionner sont celles les plus communément utilisées. Si elles ne correspondent pas aux unités établies d'après le système international d'unités (SI), ces dernières seront alors notées entre parenthèse. Les paramètres utilisés pour l'érythrogramme sont l'hématocrite, le taux d'hémoglobine la numération des globules rouges, les indices érythrocytaires de Wintrobe et l'indice de distribution des rouges (IDR).

##### **II.1.1. L'hématocrite**

L'hématocrite correspond à la contraction d'*hémato-* (sang) et de *-crit* (séparation). Quand il a été décrit la première fois, le terme d'hématocrite était le nom de la procédure pour diviser le sang en ses composants majeurs : les érythrocytes empilés, la couche du buffy coat et le plasma. La couche du buffy coat correspond à un ensemble de différentes cellules :

Les plaquettes, les lymphocytes les monocytes, les éosinophiles, les neutrophiles, les basophiles et les érythrocytes nucléés. Aujourd'hui, l'hématocrite est l'équivalent du volume occupé par les cellules sanguines circulantes (essentiellement les érythrocytes) par rapport à un volume donné de sang. Il est obtenu suite à une centrifugation du sang et correspond donc au volume de cellules empilées (VCE). Cette valeur est utile pour l'appréciation rapide de l'existence d'une anémie et de la sévérité de celle-ci (Stockham, 2008).

Une anémie correspond en premier lieu à une diminution du taux d'hémoglobine circulante. Cependant, comme l'hémoglobine est normalement contenue dans les érythrocytes, l'hématocrite reste un bon indicateur de la numération des globules rouges si le volume globulaire moyen (VGM) se situe dans l'intervalle de référence. Il est aussi un bon indicateur du taux d'hémoglobine si la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et la teneur globulaire moyenne en hémoglobine (TGMH) sont dans leurs intervalles respectifs de référence (**Stockham, 2008**).

Par la suite le terme de VCE sera souvent utilisé pour caractériser l'hématocrite. On l'exprime en % ou en l/l. D'autre part, le VCE semble être le paramètre le plus utile dans l'analyse sanguine des bovins car il est facile à déterminer et fiable (**Cole, 1997**).

### **II.1.2. Le taux d'hémoglobine**

Le taux d'hémoglobine correspond au nombre de grammes d'hémoglobine pour 100 ml de sang. Son unité est le g/dl (SI : g/l). Dans les conditions physiologiques, toute l'hémoglobine est contenue dans les érythrocytes. Le taux d'hémoglobine est donc le paramètre primordial à vérifier lors d'une suspicion d'anémie. Une diminution de l'hémoglobine circulante va être à l'origine d'une hypoxie cellulaire par une insuffisance d'apport en oxygène (**Stockham, 2002**).

### **II.1.3. La numération des globules rouges**

Elle correspond au nombre d'érythrocytes par unité de volume sanguin et s'exprime en  $10^{12}/l$ . Ce paramètre est souvent utilisé pour caractériser une anémie et en reste un bon indicateur même si nous avons déjà noté qu'il n'est pas celui qui permet véritablement de diagnostiquer une anémie. En effet, dans certains cas d'anémies, on mentionne une chute du taux d'hémoglobine sans qu'il n'y ait de diminution du nombre de globules rouges (**Stockham, 2002**).

### **II.1.4. Les indices érythrocytaires de Wintrobe**

Le VGM, la CCMH et la TGMH sont utilisés afin de déterminer les érythrocytes circulants dans le sang périphérique. Ils servent aussi de base à la classification des différentes anémies (**Stockham, 2002**).

Selon certains auteurs, ces paramètres semblent moins utiles et peu précis du fait de la grande fréquence de l'anisocytose chez les bovins mais aussi d'une possible

acanthocytose(Cole, 1997). Par exemple, l'intervalle de référence du VGM semble peu fiable car il existe une grande variabilité en fonction de l'âge, des races et des individus (Lassen, 2004).

D'autres auteurs ont établi des références qui font intervenir les facteurs âge et race (Jain, 1986 ; Kramer, 2006).

De plus, la gamme de variation du VGM paraît suffisamment large (40 à 60 fl) pour parer à une éventuelle anisocytose. D'autre part, la CCMH reste assez constante chez les mammifères et sa fourchette de valeurs varie entre 31 et 36 g/dl. Il convient ainsi de prendre du recul quant à l'interprétation des résultats et ne pas hésiter à les corréler à la lecture d'un frottis sanguin. Toute observation d'acanthocytes ou d'une anisocytose doit être prise en considération.

### **II.1.4.1. Le VGM**

Le VGM correspond au volume moyen des érythrocytes exprimés en femto litre (fl) ou en  $\mu\text{m}^3$ . Ce paramètre nous est utile dans la caractérisation des anémies microcytaires, normocytaires ou macrocytaires (Stockham, 2002).

### **II.1.4.2. La CCMH**

La CCMH représente le nombre moyen de grammes d'hémoglobine par érythrocyte pour 100 ml d'érythrocytes. Elle s'exprime en g/dl (SI : g/l). Cette valeur permet d'apprécier la fiabilité du résultat donné par le laboratoire en ce qui concerne l'hémoграмme rouge (Stockham, 2002).

Il est possible de regarder une anémie hypochrome quand les valeurs sont inférieures à 30g/dl. Ce genre d'anémies peut être relié soit à une érythrogenèse intense avec un grand nombre de réticulocytes, soit à une carence en fer ou en cuivre. D'autre part, on peut aussi compléter à une anémie normochrome si la CCMH reste dans son intervalle de référence, mais il n'est pas possible d'obtenir d'anémie hyperchrome. La CCMH ne peut être au-dessus de 36 g/dl. Dans le cas contraire, il s'agit d'un artefact de laboratoire (Lassen, 2004).

### II.1.4.3. La TGMH

La *TGMH* correspond à la quantité moyenne d'hémoglobine par érythrocyte, exposée en picogramme (pg). La *TGMH* est le paramètre le plus intéressant car le plus précoce lors de la caractérisation d'une diminution du taux d'hémoglobine. Il nous renseigne sur le poids d'hémoglobine par globule rouge. Ainsi, pour un même coefficient de saturation, ce poids est d'autant plus faible que le globule rouge est petit. On peut ainsi diagnostiquer une anémie microcytaire par perturbation du métabolisme du fer. Il s'agit d'un indicateur extrêmement fiable et précoce des anémies par perturbation du métabolisme du fer (Stockham, 2002).

### II.1.4.4. Les formules de Wintrobe

Il existe des formules qui permettent de relier les différents paramètres érythrocytaires entre eux. Ces formules sont fréquemment utilisées par les automates de mesure de la variation d'impédance afin de calculer certains résultats (Stockham, 2002). L'hématocrite est calculé à partir de la mesure du VGM et du nombre de globules rouges ( $VCE = (VGM \times [GR]) / 10$ ).

La *CCMH* est calculée à partir de la mesure du nombre de globules rouges et de l'hématocrite ( $CCMH = Hg^+ / VCE$ ). D'autre part, la *CCMH* peut aussi être obtenue en divisant la *TGMH* par le VGM ( $CCMH = TGMH / VGM$ ).

Enfin la *TGMH* est calculée à partir du taux d'hémoglobine et du nombre de globules rouges ( $TGMH = ([Hg] \times 10) / [GR]$ ).

### II.1.5. L'indice de distribution des rouges

Cet indicateur reflète le taux de variation du volume érythrocytaire. Il permet de déterminer la différence de la fenêtre (ou de largeur) de répartition des globules rouges. Une augmentation de cet indice reflète une anisocytose. L'IDR est calculé à partir du VGM par la formule :  $IDR = (\text{déviati}on\ standard\ du\ VGM / VGM) \times 100$  (Stockham, 2008).

## II.2. Le leucogramme = mesure des paramètres de la lignée blanche

Le leucogramme nous donne la numération et la formule de l'ensemble des leucocytes. Son étude est utile dans le diagnostic, d'une inflammation, d'une infection virale ou bactérienne ou lors d'infestation parasitaire.

### **II.2.1. La numération leucocytaire totale**

Elle correspond au nombre de leucocytes par unité de volume sanguin. Celle-ci s'exprime en nombre de cellules/ $\mu\text{l}$  (SI :  $10^6/\text{L}$ ). Selon les méthodes d'analyse, la numération leucocytaire totale correspond en réalité à la concentration totale en cellules nucléées. De ce fait, il faut faire attention à ce qu'il n'y ait pas d'érythrocytes nucléés dans le prélèvement sinon les mesures sont faussées. La lecture du frottis reste encore utile pour vérifier la présence ou non d'érythrocytes nucléés. Si cette présence est vérifiée, il faut faire un calcul de correction afin d'obtenir le véritable nombre de leucocytes (Stockham, 2002).

### **II.2.2. La formule leucocytaire**

Elle est en général obtenue par le comptage de 100 leucocytes ou plus sur un frottis sanguin. Le résultat des différentes fractions cellulaires est donné en pourcentage (ex : 60% de PNN, 35% de Lymphocytes et 5% de monocytes). Pour obtenir la numération précise d'un type de leucocytes, il suffit de multiplier son pourcentage par le nombre total de leucocytes (ex:  $[\text{PNN}] = \% \text{PNN} \times [\text{Leucocytes}]$ ). Cependant, de nombreux automates d'analyse sont capables de distinguer les différents leucocytes. Ils sont aptes à réaliser la formule leucocytaire soit de manière semi-quantitative (ex : le QBC vet autoread®) soit de manière quantitative (ex : les appareils de mesure utilisant la méthode de la cytométrie de flux) (Stockham, 2002).

Ce comptage différentiel n'est qu'une estimation du nombre de chaque leucocyte à cause de deux facteurs majeurs :

1) Premièrement, sur un frottis sanguin, seule une petite proportion des leucocytes est différenciée. Un échantillon de 100 cellules n'est pas représentatif de toute la population leucocytaire. Ainsi, du fait de la faible reproductibilité du comptage différentiel des leucocytes, ces formules manuelles doivent être considérées comme approximatives.

2) Deuxièmement, il faut s'assurer de la sûreté de l'identification. Un technicien de laboratoire compétent doit être capable de différencier chaque sous-population leucocytaire. Cependant, il semble parfois difficile de classer les leucocytes dans certains prélèvements. Par exemple, on peut confondre les PNN toxiques et les monocytes, ou les lymphocytes atypiques et les monocytes (Stockham, 2008).

### **II.3. Le thrombogramme = mesure des paramètres de la lignée plaquettaire**

Le thrombogramme correspond à 4 paramètres : la concentration plaquettaire, le volume plaquettaire moyen (VPM), l'indice de distribution des plaquettes (IDP) et le thrombocrite (TCT). L'étude de ces paramètres permet notamment de déterminer des anomalies plaquettaires telles que des troubles de l'hémostase primaire.

#### **II.3.1. La numération plaquettaire**

Elle correspond au nombre de plaquettes par unité de volume sanguin exprimée en  $10^3/\mu\text{l}$  (SI :  $10^9/\text{l}$ ). Dans le vocabulaire clinique, elle est l'équivalent du comptage plaquettaire (Stockham, 2002).

#### **II.3.2. Le volume plaquettaire moyen**

Tout comme le VGM il s'exprime en  $\text{fl}$  ou en  $\mu\text{m}^3$ . Cependant, Le VPM reste une moyenne. Certaines plaquettes peuvent être observées au microscope tout en étant exclues dans l'analyse par un automate. En effet, les plaquettes trop petites ou trop grandes ne sont pas comprises dans la fourchette des valeurs de références du VPM. D'autre part, certaines grandes plaquettes peuvent être confondues avec des érythrocytes et réciproquement certains petits globules rouges peuvent être confondus avec des plaquettes (Stockham, 2002).

#### **II.3.3. L'indice de distribution des plaquettes**

L'indice de distribution des plaquettes est aux plaquettes ce que l'IDR est aux érythrocytes. Il permet d'évaluer une anisocytose plaquettaire. L'IDP est calculé de la même façon que l'IDR à partir de la déviation standard du VPM et le VPM (Stockham, 2008).

#### **II.3.4. Le thrombocrite (TCT)**

Il est exprimé en % ou en  $\text{l/l}$ . En général sa valeur reste inférieure à 1%. Les valeurs de références du thrombocrite sont devenues fiables avec l'arrivée de nouveaux

automates d'analyse au milieu des années 2000. Le thrombocrite est calculé à partir du VPM et de la numération plaquettaire. De ce fait, une erreur de comptage plaquettaire due à la présence de petites ou grandes plaquettes peut modifier le thrombocrite (Stockham, 2008).

### **II.5. Les anticoagulants utilisés pour la réalisation d'un prélèvement sanguin**

En fonction de l'anticoagulant utilisé, les analyses réalisées ne seront pas les mêmes. D'autre part, certains anticoagulants peuvent altérer les constituants sanguins.

#### **II.5.1. L'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA)**

C'est l'anticoagulant de base utilisé pour la réalisation des analyses hématologiques. Il se lie au calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et aux autres cations divalents (Stockham, 2002).

#### **II.5.2. Le citrate**

Il est utilisé préférentiellement pour l'étude de la coagulation sanguine. Du  $\text{Ca}^{2+}$  est ajouté au plasma citrate pour minimiser les effets du citrate sur les constituants sanguins et permettre aux enzymes de la coagulation de fonctionner (Stockham, 2002).

#### **II.5.3. Les oxalates**

Ils sont utilisés pour des analyses spécifiques de laboratoire. Ils modifient généralement la forme des leucocytes et des érythrocytes (Stockham, 2002).

#### **II.5.4. L'héparine**

Cette molécule active l'antithrombine III. Cette dernière inhibe l'activité de plusieurs facteurs de coagulation comme la thrombine. Elle se lie aussi au  $\text{Ca}^{2+}$  mais son action majeure concerne l'activation de l'antithrombine (Stockham, 2002).

#### **II.5.5. Critères de sélection de l'anticoagulant en fonction de l'analyse réalisée et influence sur les paramètres hématologiques**

L'EDTA est l'anticoagulant de base pour le comptage des plaquettes mais le citrate peut être aussi utilisé lors d'une suspicion d'agrégats dus à l'EDTA. Dans ce cas, on effectue une correction de la mesure par un facteur  $\times 1$ . Cependant, le citrate est préférentiellement utilisé lors de transfusions sanguines car cet anticoagulant a une faible toxicité. L'héparine peut être utilisée dans de nombreuses analyses significatives telles que



l'analyse des gazsanguins. Cependant, elle sert aussi à la réalisation d'analyses biochimiques (Stockham, 2002).

L'EDTA est l'anticoagulant qui permet la meilleure conservation de la forme cellulaire sur un frottis sanguin. En effet, l'héparine et le citrate ne permettent pas d'avoir une bonne différenciation des leucocytes sur le frottis et altèrent leur forme et leur maintien. De plus, l'héparine n'empêche pas l'agrégation plaquettaire sachant que les plaquettes peuvent être facilement activées lors du prélèvement sanguin (Stockham, 2002 ; Knoll, 2006).

De plus, les plaquettes des ruminants sont très promptes aux réactions et ne sont stables que pendant 8 heures à température ambiante contre 48 heures à 4°C. Si des agrégats plaquettaires sont observés les valeurs doivent être considérées comme un minimum (Stockham, 2008).

Le VPM peut varier en fonction de l'anticoagulant, de la température de conservation, du temps de conservation. Si l'analyse est réalisée avec un automate de mesure d'impédance électrique, l'EDTA induit une augmentation artéfactuelle et temps-dépendante du VPM même si le prélèvement a été réfrigéré au préalable. Cette augmentation est aussi visible sur un prélèvement conservé avec du citrate à 4°C mais elle semble moindre. L'EDTA, l'oxalate et le citrate provoquent aussi une fuite d'eau érythrocytaire, ce qui diminue le VGM, contrairement à l'héparine si elle est correctement dosée. Enfin, les solutés présents dans les anticoagulants vont s'ajouter à l'indice de réfraction et modifier la concentration en protéines totales mesurée par un réfractomètre (Stockham, 2008).

### **II.6. Les méthodes d'analyse et les automates utilisés en hématologie**

Différentes méthodes peuvent être utilisées pour une analyse hématologique, depuis des méthodes d'analyse non automatisées (ex : la lecture du frottis sanguin) à des méthodes automatisées (ex : la cytométrie de flux). En fonction de la technique et de l'appareil de mesure utilisés, les références hématologiques sont immédiatement mesurées ou calculées à partir d'autres références.

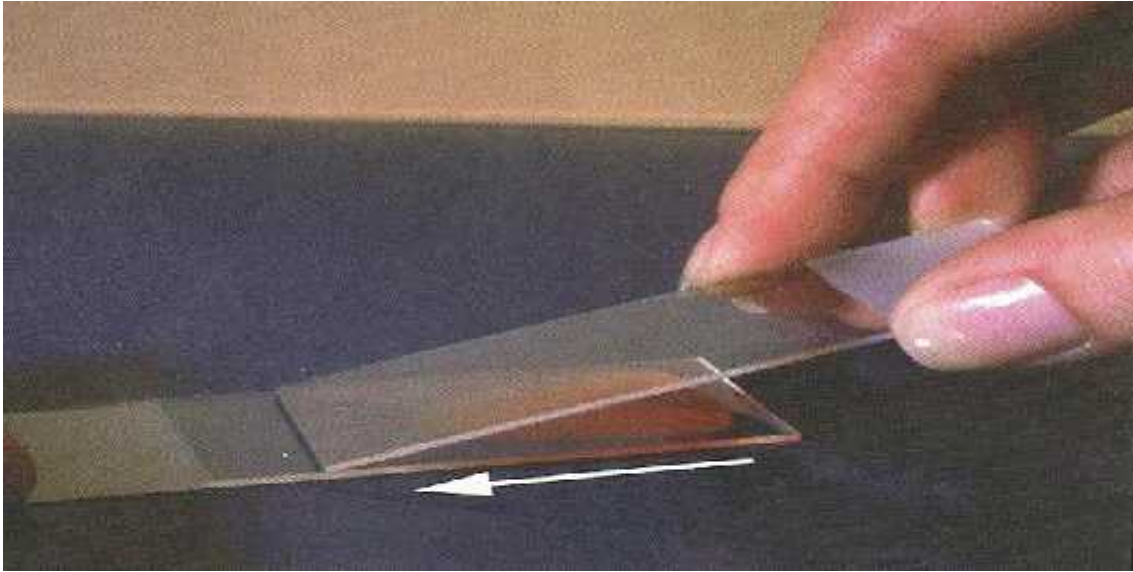
#### **II.6.1. L'examen microscopique du frottis**

Cet examen doit toujours être réalisé en médecine vétérinaire même si l'automate d'analyse utilisé donne immédiatement la formule leucocytaire. La lecture s'effectue sur la zone où les cellules sont réparties de façon monocouche. C'est une zone où les

cellules ne se superposent pas, où elles ne se touchent pas ou à peine et où les différents leucocytes sont parfaitement distinguables. L'examen se réalise d'abord à l'oculaire x4 puis x10, x40 et enfin x100 (**Stockham, 2002**).

### **II.6.1.1. Principes de base**

Le frottis permet de disperser les substances sanguines selon leur masse et leur composition. Les cellules les plus lourdes et les plus denses s'étalent d'abord tandis que les cellules plus larges et moins denses tendent à être portées vers les bords de la lame. Une petite goutte de sang est déposée à l'une des extrémités de la lame porte-objet. L'autre lame est disposée de biais en avant de la goutte selon un angle d'environ 30 à 45° puis elle est amenée au contact du liquide qui s'étale par capillarité entre les deux lames. Ensuite, la lame supérieure est alors déplacée rapidement vers l'avant à la surface de la précédente de façon à obtenir un étalement régulier et monocouche à son extrémité (Figure 08). Cependant, le phénomène de répartition cellulaire est accentué quand la viscosité sanguine diminue comme chez les patients anémiques (**Lassen, 2004**).



**Figure 7 :** Réalisation d'un frottis sanguin (D'après **Lassen, 2004**.)

Dans la zone monocouche, les cellules sont réparties uniformément dans un même volume de sang. Les concentrations mesurées ne sont pas faussées. Compter les cellules dans une zone plus épaisse peut faussement élever la numération leucocytaire totale et la numération plaquettaire. Lors d'une lecture du frottis dans la zone monocouche, les différences du nombre de cellules par champ oculaire vont refléter les différences du nombre de cellules dans des volumes identiques de sang et donc des différences de concentration. Plusieurs étapes sont à respecter lors de la lecture frottis. Certaines correspondent à des questions à se poser (**Stockham, 2002**) :

- 1) Les cellules sont-elles bien réparties et proprement étalées ?
- 2) Y-a-t-il des structures anormales et larges dans cet étalement telles que des parasites, des plaquettes agglomérées, des macrophages, des cellules épithéliales ou endothéliales ou des mégacaryocytes ?
- 3) Est-ce que les densités érythrocytaires et leucocytaires correspondent à celles attendues ?
- 4) Estimer la densité plaquettaire dans plusieurs champs de la zone monocouche puis la comparer avec les valeurs attendues. Vérifier s'il y a une présence de plaquettes géantes ou d'inclusions plaquettaires.
- 5) Evaluer les érythrocytes : taille, forme, couleur, présence d'inclusions
- 6) Réaliser la formule leucocytaire.

### **II.6.1.2. Avantages et inconvénients**

Il est recommandé de réaliser un examen microscopique d'un frottis sanguin même si l'automate utilisé est apte à établir la formule leucocytaire. Ceci permet :

- de confirmer une anomalie dans la numération leucocytaire,
- d'exclure une fausse thrombopénie par agrégation plaquettaire,
- d'identifier des anomalies érythrocytaires telles que la présence de sphérocytes, d'hématies à ponctuations, de corps de Heinz, de blastes, de cellules cancéreuses, de microfilaires ou de parasites intra-érythrocytaires.

Néanmoins, la fiabilité de la lecture dépend de la qualité de l'étalement, du nombre de cellules observées et de l'expérience du technicien (**Knoll, 2006**).

### **II.6.1.3. Le comptage plaquettaire**

Le comptage plaquettaire est une méthode d'habitude de l'estimation de la concentration plaquettaire dans un prélèvement. Il permet aussi d'évaluer la présence ou non d'agrégats plaquettaires ou de plaquettes géantes. Si des agrégats sont présents, le nombre de plaquettes est sous-estimé.

Si les plaquettes sont bien réparties, il faut estimer le nombre moyen de plaquettes au grossissement x1000, dans au moins 5 champs oculaires différents, 10 champs différents sont même conseillés. Puis, on calcule la numération plaquettaire en utilisant l'unité de conversion : une plaquette par champ est égale à 15 000 à 20 000 plaquettes par litre selon le coefficient de correction. En effet, la zone représentée par un champ microscopique varie avec le diamètre du champ qui dépend directement du nombre de champ de l'oculaire. Le coefficient de correction de 1/20 000 est utilisé quand les oculaires sont réguliers mais de 1/15 000 quand les oculaires sont à champs larges.

Au final, le nombre estimé peut être comparé aux intervalles de référence spécifiques à chaque espèce. Chez les bovins, on doit trouver au moins 8 à 10 plaquettes par champ au grossissement x1000 (**Stockham, 2002**).

*PARTIE II*  
*ETUDE*  
*EXPERIMENTALE*

*Chapitre I*  
*Matériel et méthodes*

## Objectifs de l'étude

Ce travail a pour objectif :

- Déterminer et évaluer les valeurs hématologiques chez la vache au cours de la gestation.
- Déterminer les facteurs qui influencent les paramètres hématologiques.

## Lieu et durée de l'étude

Des visites régulières d'une exploitation d'élevage de bovins ont été effectuées dans la région Moucharaf à Melakou, wilaya de Tiaret. L'étude a été réalisée entre Mars et Mai 2020.

## I. Matériel

### I.1. Animaux

Le cheptel étudié consiste en 20 vaches de races mixtes et à différents stades de gestation.



**Figure 8 :** Etat de l'exploitation lieu de l'étude.

## I.2. Matériel de laboratoire

**Tableau 1.** Matériel et produits chimiques utilisés.

Matériel	Produits chimiques
Blouse	Alcool,
Gants	Coloration May-Grünwald-Giemsa(MGG)
Seringues	
Coton	
Tubes EDTA (Ethyle Diamine Tétra acétate)	
Pipette Pasteur,	
Lamelles	
Lames	
Bec	
Support des lames,	
Automate d'analyse (Mythic 18-Orphée),	
Microscope optique.	

## II. Méthodes

### II.1.Prélèvement de sang

Au cours de cette étude, 40 prélèvements de sang ont été effectués au niveau de la veine jugulaire après désinfection soignée à l'aide de la seringue à usage unique (03 ml) de sang ont été prélevés dans un tube EDTA (Ethyle Diamine Tétra acétate), un anticoagulant chélateur du calcium permettant de conserver la forme des cellules pour réaliser un hémogramme (la Numération-Formule Sanguine (FNS) et le frottis sanguin) puis on identifie les tubes (numéro de la vache ; nombre de portée et l'âge). Après homogénéiser les mélanges des tubes, les prélèvements vont être acheminés le plus rapidement possible au laboratoire d'analyse (laboratoire de Biochimie de l'université Ibn Khaldoun–Institut des Sciences Vétérinaires Département de Santé Animale Laboratoire de Diagnostic Service d'Hématologie –Biochimie) pour préparation de frottis sanguins.

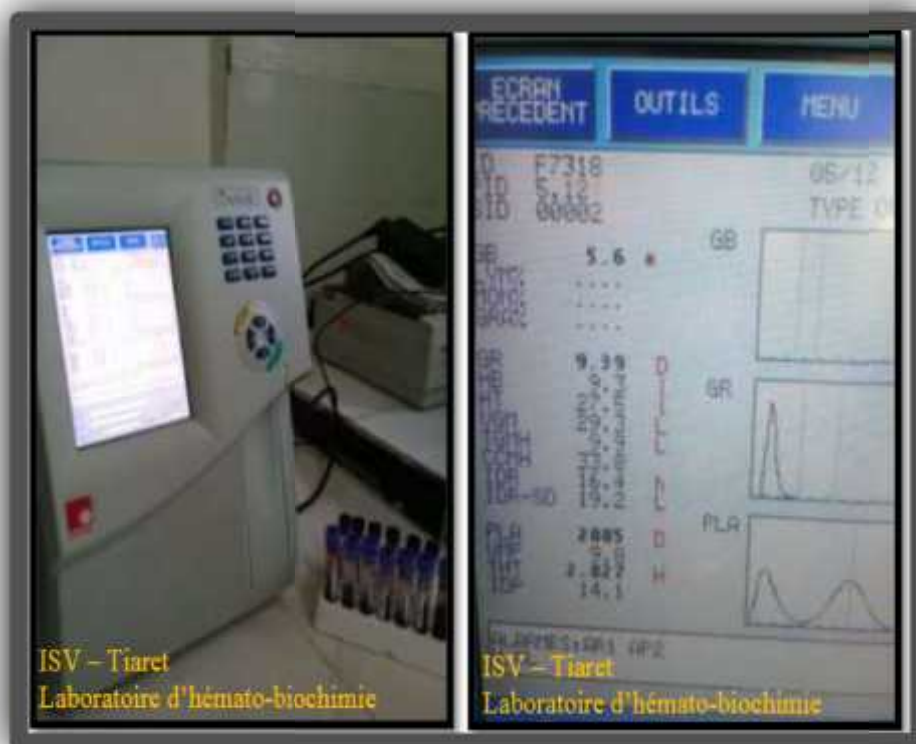


## II.2. Analyse Hématologique

L'analyse hématologique a été réalisée à l'aide d'un automate d'analyse (Mythic 18-Orphée). Les paramètres mesurés sont récapitulés dans le tableau ci-dessous avec leurs abréviations et leurs unités de mesure :

**Tableau 2.** Paramètres hématologiques mesurés.

Paramètres	Abréviations	Unités
Numération des globules rouges	GR	M/ $\mu$ l
Taux d'hémoglobine	HGB	g/dl
Hématocrite	HCT	%
Volume globulaire moyen	VGM	fl
Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine	CCMH	g/dl
Numération leucocytaire totale	GB	K/ $\mu$ l
Numération plaquettaire	PLT	K/ $\mu$ l



**Figure 9.** Automates pour analyse hématologique de la formule normale sanguine (FNS)

### II.3. Réalisation du frottis sanguin :

Des frottis sanguins pour chaque vache ont été préparés afin de déterminer le nombre des différents types de GB (polynucléaires et mononucléaires, puis colorés avec la coloration MGG, ensuite observés au microscope optique.

Les frottis ont été réalisés sur des lames préalablement dégraissées par alcool. Les étalements ont été réalisés dans les 3 heures de temps après le prélèvement sanguin. Délai au-delà duquel une lyse et une déformation des leucocytes est observée.



1. Dégraissage des lames par alcool.



2. Une petite goutte de sang est déposée à 1cm de l'extrémité de la lame.



3. Une seconde lame rodée inclinée à  $45^{\circ}$  est mise en contact avec la goutte de sang.



4. Faire glisser la lame rodée jusqu'à ce qu'elle touche la goutte de sang.

5. Laisser le sang se répartir tout le long du bord de la lame.

g.



6. La lame rodée est poussée dans le sens de la flèche de façon à étaler le sang en une mince couche uniforme. Le sang doit suivre la lame et non être poussé par elle.

7. Après étalement, les frottis sont séchés rapidement à l'air.



7. Colorée avec le May Grünwald-Giemsa (MGG).

**Figure 10.** Protocole de réalisation d'un frottis sanguin.

- **Coloration au May-Grünwald-Giemsa (MGG)**

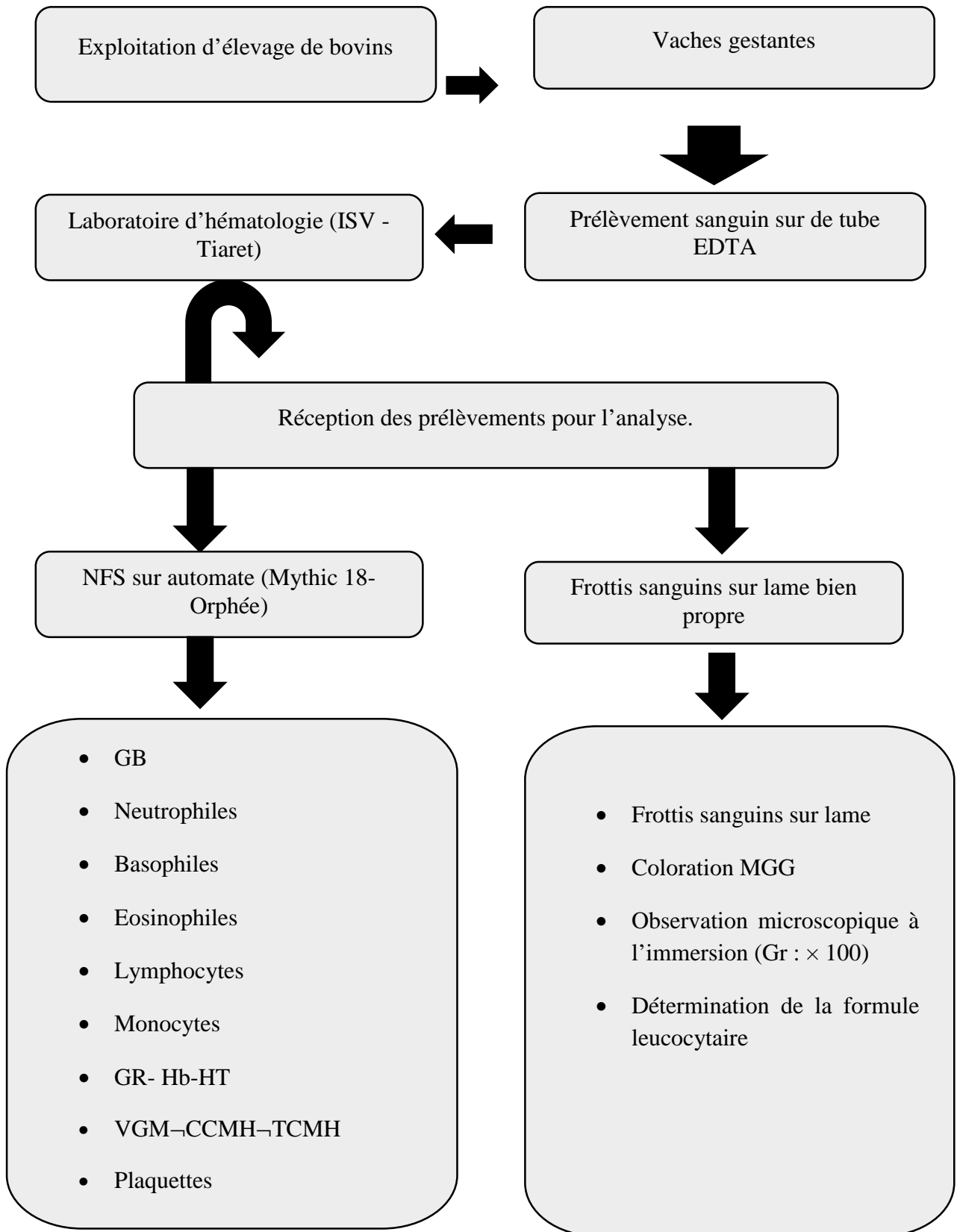
C'est une méthode classique de coloration utilisée en hématologie pour différencier les cellules sanguines lors des préparations cellulaires. Son principe repose sur l'action complémentaire de deux colorants neutres et sur l'affinité des éléments cellulaires pour les colorants acides ou basiques.

- **Etapes de coloration**

- 1- Placer les Frottis dans un bec ;
- 2- Mettre des gouttes de May-Grunwald pendant 1-3 min ;
- 3- Rincer avec l'eau distillée pendant une minute ;
- 4- Mettre des gouttes de Giemsa dilué à 1/10 pendant 15 à20 min ;
- 5-Rincer avec l'eau distillée ;
- 6- Laisser les lames sécher à l'air avant l'observation au microscope.



**Figure 11.** Technique de coloration des frottis sanguins à la MGG.



**Figure 12 :** Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

# *Résultats et Discussion*



## Chapitre II. Discussion

---

### DISCUSSION :

D'après les études réalisées sur les paramètres hématologiques de la vache, il est évident que le profil hématologique varie considérablement pendant la gestation.

Doxey (1977) a démontré que le nombre d'érythrocytes augmentait légèrement mais significativement ( $p < 0,05$ ) au cours de la gestation. Selon d'autres auteurs, la numération des globules rouges reste stable en fonction du stade de gestation (**Conner, 1967**). Cependant, les vaches âgées entre 2 et 4 ans auraient entre 200 000 et 400 000 érythrocytes/cm<sup>3</sup> de plus que les vaches âgées de 5 ans et plus. De plus, ces auteurs ont remarqué une interaction significative ( $p < 0,05$ ) entre l'âge et le stade de gestation.

D'après (**Greatorax, 1957**), le VCE, le taux d'hémoglobine et le nombre de globules rouges semblent augmenter les 4 premiers mois de gestation puis leurs valeurs diminuent entre le 4<sup>e</sup> et le 7<sup>e</sup> mois. Ceci s'explique par l'anémie physiologique de la gestation. En effet, le fer est réservé en priorité au fœtus qui stocke ce dernier dans son foie au cours de cette période. Au contraire, (**Hewett, 1974**) a trouvé à l'automne, une diminution significative du VCE pendant les 3 premiers mois de gestation (passage d'environ 37,5 à 33 %,  $p < 0,05$ ) ainsi qu'une baisse de la concentration en protéines totales sériques (passage de 66 g/dl à 1 mois à 61 g/dl à 3 mois,  $p < 0,01$ ) chez des génisses laitières, sans qu'il n'y ait un effet de l'âge.

Néanmoins, il n'a pas pu séparer les effets de la gestation de ceux de la lactation chez les vaches.

L'état et le stade de gestation n'ont aucun effet sur la numération leucocytaire totale (**Conner, 1967**). L'âge n'intervient pas non plus dans la modification de la numération leucocytaire totale en fonction de l'état et du stade de gestation de 2 à 4 ans d'âge puis à partir de 5 ans et plus.

Dans ces deux groupes d'âge, aucune différence significative n'a été relevée entre le nombre total de leucocytes des vaches gestantes et celui des vaches non gestantes. Cependant, le nombre de leucocytes était en moyenne de 7816 cellules/mm<sup>3</sup> pour les vaches gestantes âgées de 2 à 4 ans contre 6871 pour celles âgées de 5 ans et plus, même

## Chapitre II. Discussion

---

si la différence n'était pas significative. De plus, la numération leucocytaire totale a diminué les 4 premiers mois seulement pour les vaches âgées de 5 ans et plus.

Une étude antérieure indiquait une augmentation graduelle du nombre de leucocytes les dernières semaines de gestation (**Straub, 1959**). Cependant, mes auteurs ont surtout observé une élévation marquée de la numération leucocytaire totale le jour précédant la mise basse puis un deuxième pic le jour suivant le part. Ceci s'explique par l'augmentation de la concentration en glucocorticoïdes induite par la sécrétion d'hormone corticotrope ou adrénocorticotrophine (ACTH) par l'hypophyse à l'origine du part. Une différence liée à l'âge a été démontrée sur la formule leucocytaire des vaches gestantes (**Conner, 1967**).

Le nombre de lymphocytes était significativement plus élevé pour les vaches âgées de 2 à 4 ans (4726 contre 3724 cellules/mm<sup>3</sup>,  $p < 0,05$ ) bien qu'aucun effet du stade de gestation n'ait été relevé. De même, les vaches non gestantes âgées de 2 à 4 ans avaient aussi environ 1000 lymphocytes de plus que les vaches plus âgées (4716 contre 3808 cellules/mm<sup>3</sup>). De plus, le nombre de neutrophiles était significativement plus faible pour les vaches gestantes âgées de 2 à 4 ans (2524 contre 2558 cellules/mm<sup>3</sup>,  $p < 0,01$ ) sans qu'aucune fluctuation notable liée au stade de gestation ne soit remarquée.

La concentration en protéines totales plasmatiques semble décroître lors de la gestation (**Jain, 1993**).

Concernant les immunoglobulines, une étude a montré que les IgG1 diminuaient de 62 % entre la 5<sup>e</sup> et la 1<sup>e</sup> semaine *pre partum*, avant de remonter par la suite pendant les 3 semaines qui suivaient le vêlage jusqu'à des valeurs supérieures à celle mesurée à la 5<sup>e</sup> semaine *pre partum*. Les IgM chutaient de 7 % entre la 5<sup>e</sup> semaine *pre partum* et la 4<sup>e</sup> semaine *post partum* tandis que les IgG augmentaient de 20 % la 3<sup>e</sup> semaine *post partum* par rapport à la valeur de la 5<sup>e</sup> semaine *pre partum* (**Detilleux, 1995**).

# *Conclusion*

## CONCLUSION

---

### CONCLUSION

Peu de données scientifiquement vérifiables sont disponibles au sujet des variations des paramètres hématologiques chez la vache gestante en Algérie. Dans cette étude, les profils hématologiques des vaches gestantes ont été déterminés. Ces derniers peuvent être considérés comme indicateurs potentiels de l'état sanitaire des bovins de la région.

Chez les vaches gestantes, certains paramètres hématologiques montrent des variations considérables en fonction de l'âge, la saison et l'état physiologique. Les principaux points à conclure sont:

- Le stade physiologique influence le profil hématologique de la vache
- L'hémoglobine et l'hématocrite diminuent avec l'âge des vaches et à la fin de gestation en raison de l'augmentation des besoins fœtaux en oxygène et en nutriments.
- Le nombre des globules blancs augmente avec la durée de la gestation à cause des troubles hormonaux.
- La valeur nutritive du type d'aliment et la quantité ingérée par l'animal peuvent réduire les valeurs des GR, Hb et Ht.

*Référence  
bibliographiques*

## Références Bibliographiques

---

### Références Bibliographiques

1. Arcangioli, MA. L'anémie du veau de moins de trois mois. Dans : Proceeding des Journées Françaises de Buiatrie 2008. Paris, 2008 :15-19.
2. Archer, RK. The nature of the blood and its disorders. In : Comparative Clinical haematology. [éd.] Archer, RK and Jeffcott, LB. Oxford : Blackwell Scientific Publications, 1977 :1-12.
3. Bienzle, D. Monocytes and Macrophages. In : Schalm's Veterinary Hematology. [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition. Blackwell Publishing, 2006:318-325.
4. Chevrier, L et Gayot, G. Contribution à l'étude de la numération leucocytaire du bovin Holstein. Bull Acad Vét Fr. 1972;45:93-102.
5. Cole, DJ, Roussel, A, Whitney, MS. Interpreting a bovine CBC: Collecting a sample and evaluating the erythron. Vet Med. 1997;92(5):460-468
6. Conner, GH, La Belle, JA, Eyster, J, Wonnacott, J. Effect of Pregnancy and Age on Hemograms of Holstein-Friesian Cattle in a Herd with No Evidence of Leukemia. Am J Vet Res. 1967 ;28(126) :1303-1312.
7. Dettelleux, JC, Kehrl Jr, ME, Stabel, JR, Freeman, AE, Kelley, DH. Study of immunological dysfunction in periparturient Holstein cattle selected for high and average milk production. Vet Immunol Immunopathol. 1995 ;44(3-4) :251-267.
8. Drieu, C. (2009). Hématologie en médecine bovine et application à la réalisation d'une transfusion (Doctoral dissertation).
9. Egli, CP and Blum, JW. Clinical, Haematological, Metabolic and Endocrine Traits During the First Three Months of Life of Suckling Simmentaler Calves Held in a Cow-Calf Operation. J Vet Med A. 1998 ;45(2) :99-118.
10. Fisher, DD, Wilson, LL, Scholz, RW. Environmental and Genetic Effects on Hematologic Characteristics of Beef Cows. Am J Vet Res. 1980 ;41(9) :1533-1536.
11. Granzien, CK. Leucocyte Values in Queensland Cattle. Res Vet Sci. 1968 ;9(6) :544-550.
12. Greator, JC. Observations on the haematology of calves and various breeds of adult dairy cattle. Br Vet J. 1957;113:29-33,65-70,469-481.
13. Grimes, RM, Duncan, CW and Lassiter, CA. Bovine Fetal Hemoglobin. I. Postnatal Persistence and Relation to Adult Hemoglobins. J Dairy Sci. 1958;41(11) :1527-1533.
14. Harvey, JW. The erythrocyte: Physiology, metabolism, and biochemical Disorders. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. [éd.] Harvey, JW, Bruss, ML, Kaneko, JJ. 5th Edition. San Diego: Academic Press, 1997:157-203.
15. Hewett, C. On the Causes and Effects of Variations in the Blood Profile of Swedish Dairy Cattle. Acta Vet Scand. 1974;supplementum 50:1-152.
16. Hubbert, WT and Hollen, EJ. Cellular Blood elements in the Developing Bovine Fetus. Am J Vet Res. 1971 ;32(8) :1213-1219.
17. Iriadam, M. (2007). Variation in certain haematological and biochemical parameters during the peri-partum period in Kilis does. Small Rumin. Res., 73 :54-57.

## Références Bibliographiques

---

18. Jain, NC. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993:417pages
19. Jain, NC. Schalm's Veterinary Hematology. 4th Edition. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986:178-207.
20. Jeffcott, LB. Haematological investigation as an aid to diagnosis. In: Comparative Clinical hematology. [éd.] Archer, RK and Jeffcott, LB. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1977:13-23.
21. Jones, M, Allison, R. Differential Blood Count in Young and Adult Cattle. Dans: Proceeding des Journées Françaises de Buiatrie 2008. Paris, 2008:7-10.
22. Kampen, AH, Olsen, I, Tollersrud, T, Storset AK and Arve Lund, A. Lymphocyte subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life. Vet Immunol Immunopathol. 2006;113(1-2):53-63.
23. Knoll, JS. Clinical Automated Hematology Systems. In : Schalm's Veterinary Hematology [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition. Blackwell Publishing, 2006 :3-11.
24. Knowles, TG, Edwards, JE, Bazeley, KJ, Brown, SN, Butterworth, A, Warriss, PD. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. Vet Rec. 2000;147(21):593-598.
25. Kramer, JW. Normal Hematology of Cattle, Sheep, and Goats. In : Schalm's Veterinary Hematology. [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition. Blackwell Publishing, 2006:1075-1086.
26. Lassen, ED and Weiser, G. Laboratory Technology for Veterinary Medicine. In : Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. [auteur du livre] Thrall, MA. [éd.] Troy, DB. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2004:3-38.
27. Lee, CK, Odell, GV, Elliot, FP, Anderson, IL, Jones, EW. Postnatal Loss of Bovine Fetal Hemoglobin. Am J Vet Res. 1971 ;32(7) :1039-1044.
28. Mohri, M, Sharifi, K, Eidi, S. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. Res Vet Sci. 2007;83:30-39.
29. Penny, RHC and Scofield, AM. Haematological values for the clinically normal bull. Br Vet J. 1966;122(6) :239-247.
30. Ryan, G.M. Blood Values in Cows: Erythrocytes. Res Vet Sci. 1971 ;12(1):572-575.
31. Ryan, G.M. Blood Values in Cow: Leucocytes. Res Vet Sci 1971;12(1):576-578.
32. Sawankumar R D; Vasava A A; Pathan M M; Madhira P S; Pate Y G; Pande A M. Effect of season on physiological, biochemical, hormonal, and oxidative. India: Veterinary World, EISSN, 2017.-6: Vol. 10.-pp. 650-654.
33. Schultz, RD, Confer, F and Dunne, HW. Occurrence of Blood Cells and Serum Proteins in Bovine Foetus and Calves. Can J Comp Med. 1971;35(2):93-98.
34. Smith, GS. Neutrophils. In : Schalm's Veterinary Hematology. [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition. Blackwell Publishing, 2006:281-296.
35. Stevanovi , O; M, Stojiljkovi ; D, Nedi ; D, Radoja; V, Nikoli ; R, Prodanovi ; S, Ivanov; I, Vujanac. Variability of Blood Serum Biochemical Parameters in Karakachan Sheep. Serbia: Biotechnology in Animal Husbandry , 2015.-1 : Vol. 31.-pp. 55-62.

## Références Bibliographiques

---

36. Stockham, SL and Scott, MA. Basophils and Mast Cells. In: Schalm's Veterinary Hematology. [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition. Blackwell Publishing, 2006:308-318.
37. Stockham, SL and Scott, MA. Fundamentals of Veterinary clinical Pathology. Blackwell Publishing, 2002:32-48.
38. Stockham, SL and Scott, MA. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. 2nd Edition. Blackwell Publishing, 2008:908 pages.
39. Straub, OC, Schalm, OW, Hughes, JP, Theilen, GH. Bovine Hematology. II. Effect of Parturition and Retention of Fetal Membranes on Blood Morphology. J Am Vet Med Assoc. 1959;135(12) :618-622.
40. Thrall, MA. Erythrocyte Morphology. In: Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. [Auteur du livre] Thrall, MA. [éd.] Troy, DB. Baltimore : Lippincott Williams and Wilkins, 2004:69-82.
41. Titaouine, M; Bergonier, D; Deghrouche, K; Mohamdi, H. Variations environnementales de paramètres sanguins de brebis Ouled Djellal à 3 altitudes en élevage extensif, Algérie [Revue].-Biskra in Algeria: Livestock Research for Rural Development, 2017.-3: Vol. 29. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Thrall, MA. [éd.] Troy, DB.
42. Nizard, IR. Veterinary Immunology an Introduction. 8th Edition. Saunders Elsevier, 2009:139-151.
43. Wingfield, WE and Tumbleson, ME. Hematologic parameters, as function of age, in female dairy cattle aging and hematologic values. Cornell Vet. 1973;63(4):72-80.
44. Young, KM. Eosinophils. In : Schalm's Veterinary Hematology. [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition. Blackwell Publishing, 2006 :297-307.
45. Zvorc, Z., Mrljak, V., Susic, V. and Gotal, J. (2006). Haematological and biochemical parameters during pregnancy and lactation in sows. Vet. Arch., 76 :245-253.