

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**

**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET**

**INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES**



**Mémoire de fin d'études  
en vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire**

**THEME :**

**Principales modifications hemato-biochimique accompagner certains  
maladies infectieuses chez bovins**

**Présenté par :**

**Benadda Moustafa**

**Bardadi Benattia Mostefa**

**Encadré par :**

**Mme : Rehai**

**Année universitaire : 2016 – 2017**

# sommaire

I. Remerciement

II. Dédicace

III. Liste des abreviations

V. Introduction

**I-Les différents constituants sanguins chez les bovins .....1**

**I.1. Les érythrocytes..... 1**

**I.1.1. Morphologie ..... 1**

**I.1.2. Rôles .....2**

**I.1.3. Variations physiologiques et réaction en cas d'anémie..... 2**

**I.1.3.1. Variation de la taille et stabilité en solution.....2**

**I.1.3.2. Variations de la forme.....3**

**I.1.3.3. Erythropoïèse et réaction en cas d'anémie.....4**

**I.1.4. L'hémoglobine.....4**

**I.1.4.1. Les différents types d'hémoglobine.....5**

**I.1.4.2. Evolution des différents types d'hémoglobine.....5**

**I.1.5. Le métabolisme érythrocytaire.....5**

**I.1.5.1. Biochimie érythrocytaire.....6**

**I.1.5.2. Affinité pour le dioxygène.....6.**

**I.1.5.3. Oxydation des érythrocytes.....7**

**I.2.1. Morphologie : I.2.1.1. Le polynucléaire neutrophile mature.....7**

**I.2.1.2. Les polynucléaires neutrophiles immatures.....8**

**I.2.1.2.1. Le neutrophile non segmenté («band neutrophil»).....8**

**I.2.1.2.2. Le métamyélocyte.....9**

**I.2.2. Rôles.....9**

**I.2.3. Modification de la répartition des neutrophiles en réponse à une inflammation.....9**

<b>I.3. Les polynucléaire éosinophiles.....</b>	<b>11</b>
<b>I.3.2. Rôles.....</b>	<b>12</b>
<b>I.4. Les polynucléaires basophiles.....</b>	<b>13</b>
<b>I.4.1. Morphologie.....</b>	<b>13</b>
<b>I.4.2. Rôles.....</b>	<b>13</b>
<b>I.5. Les lymphocytes.....</b>	<b>14</b>
<b>I.5.1. Morphologie.....</b>	<b>14</b>
<b>I.5.1.1. Les petits lymphocytes.....</b>	<b>14</b>
<b>I.5.1.2. Les lymphocytes moyens.....</b>	<b>15</b>
<b>I.5.2. Rôles.....</b>	<b>16</b>
<b>I.5.2.1. Le lymphocyte T.....</b>	<b>16</b>
<b>I.5.2.2. Le lymphocyte B.....</b>	<b>18</b>
<b>I.6.1. Morphologie.....</b>	<b>18</b>
<b>I.6.2. Rôles.....</b>	<b>19</b>
<b>I.7. Les plaquettes.....</b>	<b>20</b>
<b>I.7.1. Morphologie.....</b>	<b>20</b>
<b>I.7.2. Rôles.....</b>	<b>20</b>
<b>I.8. Les protéines totales.....</b>	<b>21</b>
<b>I.8.1. Métabolisme.....</b>	<b>22</b>
<b>I.8.2. Rôles.....</b>	<b>22</b>
<b>.. I.8.3. Les différentes protéines plasmatiques.....</b>	<b>23</b>
<b>I.8.3.1. L'albumine.....</b>	<b>23</b>
<b>I.8.3.2. Les globulines : protéines de la phase aiguë de l'inflammation.....</b>	<b>23</b>
<b>I.8.3.3. Les immunoglobulines.....</b>	<b>24</b>
<b>I.8.3.4. Le fibrinogène et les haptoglobines.....</b>	<b>24</b>
<b>II-les maladies infectieuses des bovins .....</b>	<b>24</b>

<b>II-1- maladies bactériennes .....</b>	<b>24</b>
➤ Les salmonelloses.....	25
➤ La fièvre Q (ou coxiellose).....	26
➤ La listériose.....	26
<b>II-2-maladie viral .....</b>	<b>27</b>
a) Infection par le virus de la diarrhée virale bovine (BVD-MD).....	27
b) Infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR).....	28
<b>III-Diagnostic hemato-biochimique des maladies Infectieuse chez le bovins.....</b>	<b>29</b>
. <b>III-1Propédeutique des différents paramètres sanguins.....</b>	<b>29</b>
<b>III.1 .1. L'érythrogramme = mesure des paramètres de la lignée rouge .....</b>	<b>29</b>
<b>III.1.1.1. L'hématocrite.....</b>	<b>29</b>
<b>III.1.1.2. Le taux d'hémoglobine.....</b>	<b>30</b>
<b>III.1.1.3. La numération des globules rouges.....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.1.4. Les indices érythrocytaires de Wintrobe.....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.1.4.1. Le VGM.....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.1.4.2. La CCMH.....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.1.4.3. La TGMH.....</b>	<b>32</b>
<b>III.1.1.4.4. Les formules de Wintrobe.....</b>	<b>32</b>
<b>III.1.2. Le leucogramme = mesure des paramètres de la lignée blanche.....</b>	<b>33</b>
<b>III.1.2.1. La numération leucocytaire totale.....</b>	<b>33</b>
<b>III.1.2.2. La formule leucocytaire.....</b>	<b>33</b>
<b>III.1.2.3. Le thrombogramme = mesure des paramètres de la lignéeplaquettaire.....</b>	<b>34</b>
<b>III.1.2.3.1. La numération plaquettaire.....</b>	<b>34</b>
<b>III.1.2.3.2. Le volume plaquettaire moyen.....</b>	<b>35</b>
<b>III.1.2.3.3. L'indice de distribution des plaquettes.....</b>	<b>35</b>
<b>III.1.2.3.4. Le thrombocrite (TCT).....</b>	<b>35</b>
<b>III.1.2.4. Les protéines totales.....</b>	<b>35</b>

<b>III.1.2.5. Les anticoagulants utilisés pour la réalisation d'un prélèvement sanguin.....</b>	<b>36</b>
<b>III.1.2.5.1. L'acide éthylène diamine tetra acétique (EDTA).....</b>	<b>36</b>
<b>III.1.2.5.2. Le citrate.....</b>	<b>36</b>
<b>III.1.2.5.3. Les oxalates.....</b>	<b>36.</b>
<b>III.1.2.5.4. L'héparine.....</b>	<b>36</b>
<b>III.1.2.5.5. Critères de sélection de l'anticoagulant en fonction de l'analyse réalisée et influence sur les paramètres hématologiques.....</b>	<b>37</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>39</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>40</b>

## *Remerciements*

*Avant tout, louange à ALLAH pour nos prières qui ont été exaucées, ainsi que pour le courage dont il nous a dotés, pour qu'on puisse atteindre ce niveau dans nos études.*

*On remercie vivement Mme. RAHAI, notre encadreur, pour ses conseils qui nous a été très utiles tant au cours de notre travail que lors de la rédaction de ce manuscrit.*

*On remercie les membres de jury, pour l'honneur d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nos remerciements vont aussi à tous les enseignants de l'Institut des Sciences Vétérinaires qui ont contribué à notre formation.*

*Enfin nous tenons à exprimer notre reconnaissance à tous nos amis et collègues pour le soutien moral et matériel.*



# Dédicace



*Grâce à dieu le tout puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail en ce jour solennel, je dédie  
cette mémoire spécialement :*

*A mes très chers frères habib filali et benbekkar zine el abidine*

*Et surtout à ma future femme K.E*

*A mes parents qui m'ont entouré et m'entoure toujours d'amour et d'affection, qui m'ont  
souhaités et me souhaitent tout le succès dans mes études. Personnes qui ont sacrifiés leur  
vie pour que je sois. Je leurs exprime toute ma gratitude et ma profonde affection, que Dieu  
les garde, les protège et les bénis.*

*Au nom de l'amour, du respect et de l'amitié, je dédie cette mémoire à toutes les personnes  
que j'aime, que j'admire, que j'estime et que je respecte :*

*A tous ma famille*

*A mes camarades de la promotion 5<sup>ème</sup> année vétérinaire 2016/2017*

*A tous mes ami(e)s.*

*Mes professeurs, et surtout mon encadreur Mme. RAHAI*

*A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser cette mémoire.*

***BENADDA Moustafa et BENATTIA Moustafa***

## LISTE DES ABREVIATIONS

µl : microlitre

µm : micromètre

µm<sup>3</sup>: micromètre cube

ACD : Acide citrate dextrose

ADN : acide désoxyribonucléique

ADP : adénosine diphosphate

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien

ALAT : alanine amino-transférase

ATP : adénosine triphosphate

BCR : B cell receptor

BFU : Burst forming unit

BVD: bovine viral diarrhea

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CFU : colony forming unit

CFU-s : colony forming unit in spleen

CIVD : coagulation intra-vasculaire disséminée

cm : centimètre

CMH-I : complexe majeur d'histocompatibilité de type I

CMH-II : complexe majeur d'histocompatibilité de type II

CO<sub>2</sub> : dioxyde de carbone

CPA : cellule présentatrice d'antigène

CPK : créatine phospho-kinase

CSH : cellule souche hématopoïétique

DDSV : direction départementale des services vétérinaires

dl : deciliter

ECF-A : eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis

EDTA : acide éthylènediamine tétra-acétique

EGB : ehrlichiose granulocytaire bovine

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

EPO : érythropoïétine

fl : femtolitre

g : gramme

g/dl : gramme par décilitre

g/l : gramme par litre

h : heure

Hb : taux d'hémoglobine

Hbe : hémoglobine embryonnaire

Hbf : hémoglobine fœtale

Ht : hématocrite

IFI : immunofluorescence indirecte

Ig : Immunoglobuline

IM : intramusculaire

IV : intraveineux

kg : kilogramme

LB : lymphocyte B

LBE : leucose bovine enzootique

LT : lymphocyte T

LTc : lymphocyte T cytotoxique

LTh : lymphocyte T helper

MADO : maladie à déclaration obligatoire

MARC : maladie réputée contagieuse

MAT : technique de micro-agglutination

mg : milligramme

mg/l : milligramme par litre

MGG : May Grunwäld et Giemsa

ml : millilitre

mm<sup>3</sup> : millimètre cube

NFs : numération formule sanguine

NG : numération globulaire

PAF : platelets activation factor

PCR : polymerase chain reaction

PDF : produits de dégradation de la fibrine

pg : picogramme

pH : potentiel hydrogène

ppm : partie par million

QBC : Quantitative buffy coat

s : seconde

SC : sous-cutané

5HT : 5-hydroxytryptamine

SPM : système des phagocytes mononuclées

TGMH : taux globulaire moyen en hémoglobine

## Introduction

L'hématologie correspond à l'étude du système lymphopœïétique - qui se compose des cellules sanguines et du plasma - et s'intéresse aux maladies du sang. Cette discipline tient une place fondamentale au sein de la médecine vétérinaire.

Nous réalisons une numération formule sanguine (NFS) afin de décrire l'état sanguin d'un individu. Le sang est le véhicule de nombreux éléments notamment des cellules inflammatoires vers les sites distants affectés. Chaque constituant sanguin est différenciable d'un autre et joue un rôle particulier, même s'il est possible de regrouper certains éléments en fonction de leur morphologie (ex : les polynucléaires) ou de leur fonction (ex : le transport de l'oxygène par les hématies). Les connaissances concernant ces constituants et leurs variations permettent d'utiliser la NFS comme examen complémentaire, lors de la suspicion de certaines pathologies. Un ensemble de références hématologiques a été établi pour caractériser une NFS. Il existe plusieurs méthodes de mesure et d'analyse de paramètres associés.

L'interprétation des résultats d'une analyse sanguine est basée sur les connaissances du fonctionnement physiologique normal d'un organisme et des effets d'une maladie sur ce fonctionnement. Afin de les différencier, il est nécessaire de comparer les résultats obtenus à des intervalles de référence estimés à partir d'animaux jugés « sains ». Les intervalles de référence s'établissent en fonction de l'espèce. Cependant, il faut aussi tenir compte de facteurs physiologiques et environnementaux (ex : l'alimentation, le sexe, la race, l'état de gestation et de lactation...). Nous savons que de nombreux remaniements cellulaires ont lieu après la naissance, surtout chez le veau jusque 3-4 mois, car cela correspond à la période de maturité de son système immunitaire.

Les progrès de l'hématologie ont permis le passage de méthodes non automatisées à des appareils de mesures plus sophistiqués qui rendent la NFS plus pratique à réaliser en médecine vétérinaire rurale. Les objectifs de notre étude étaient d'évaluer les variations des valeurs hématologiques du veau de la naissance à 60 jours en tenant compte de l'alimentation et de la race. Nous avons suivi ces changements sur des veaux de présents dans les Mont du Lyonnais nourris seulement au lait de vache. Nous avons également voulu observer s'il existait une corrélation entre les valeurs hématologiques de la mère et de son veau à la naissance puis les premiers jours d'âge.

## **I-Les différents constituants sanguins chez les bovins**

La structure des cellules sanguines peut être vue sur un frottis sanguin après l'avoir coloré. Les colorations de Romanowsky sont les meilleures pour marquer les cellules sanguines. Romanowsky a utilisé 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 teintures 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. Plusieurs colorations peuvent être ainsi utilisées. La coloration de Wright est une combinaison d'éosine et de bleu de méthylène oxydé (teinte azure). Il existe aussi les colorations de May GrünwaldGiemsa, de Wright-Giemsa et de Wright-Leishman (2).

Nous allons décrire la morphologie, le rôle et les particularités physiologiques des éléments de chaque lignée cellulaire ainsi que les protéines totales. Les hématies sont les cellules majoritairement observées sur un frottis sanguin. Elles jouent un rôle fondamental dans le fonctionnement d'un organisme vivant.

### **I.1. Les érythrocytes**

Principales cellules sanguines, les érythrocytes ou hématies sont communément appelées les globules rouges. Leur basophilie va attirer l'éosine donnant leur couleur rose. Il existe une grande variabilité 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 assuré grâce à une protéine particulière appelée hémoglobine (Hb). Les particularités 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 (3). Il survit de 70 à 126 jours chez le veau âgé de 3 à 4 mois et environ 130 jours chez un bovin adulte (4). 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 (1). En général, on dénombre entre 800 et 900 érythrocytes pour un leucocyte et environ 15 érythrocytes pour une plaquette (3). La forme biconcave est commune à tous les mammifères (5).

### **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**

Plusieurs termes doivent d'abord être définis afin de mieux comprendre le vocabulaire spécifique de la description des érythrocytes (6) :

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 observée de façon physiologique et à faible degré lors de la lecture d'un frottis sanguin d'un bovin (Figure 1) (3).

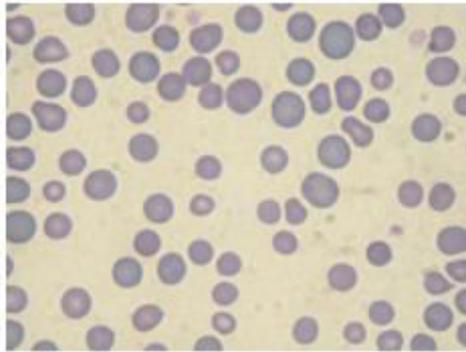


Figure 1: Anisocytose érythrocytaire chez un bovin (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup)

En temps normal, les érythrocytes possèdent une grande stabilité en suspension par leur petite taille et l'absence physiologique de rouleaux de formation (3). Aucun rouleau de formation ne doit être observé lors de la lecture d'un frottis sanguin et le taux de sédimentation doit aussi rester faible. Cependant, une hyperfibrinogénémie peut entraîner l'apparition de rouleaux de formation et tend à augmenter le taux de sédimentation (3), (4).

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

On ne note 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 poïkilocytose. D'autres part, la présence d'acanthocytes ne semble pas usuelle chez un animal en bon santé mais elle peut-être due à un artéfact technique lié à de l'étalement sanguin sur la lame porte-objet (4).

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 (4).

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

L'érythropoïèse débute à partir de cellules souches pluripotentes. Ces cellules très immatures sont nommées des proérythroblastes. Elles se différencient rapidement en cellules appelées 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 (7). 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 (3).

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 (8). 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 (4).

### **I.1.4. L'hémoglobine**

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

L'hème contient 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 contenue dans une cellule lui permet d'avoir un meilleur temps de demi-vie par rapport à une libre circulation dans le sang (5). 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 (2)

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

Les tétramères peptidiques de l'hémoglobine sont constitués de chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  dont l'étude permet de différencier 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 aussi intra-individuel (par les différentes hémoglobines) chez les ruminants. Ce polymorphisme est plus marqué pour les chaînes  $\beta$ . Concernant le polymorphisme intraindividuel, trois types d'hémoglobines se succèdent : l'hémoglobine embryonnaire (HbE),

l'hémoglobine fœtale (HbF) et l'hémoglobine adulte (HbA) (4).

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 élevée (5). Le passage de l'hémoglobine embryonnaire à l'hémoglobine adulte débute in utero et peut durer plusieurs mois après la naissance. Cependant, cette transformation 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 (4).

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

L'HbE persiste quelque mois suite à la naissance (9). Une étude a démontré qu'à la naissance, la concentration en HbF variait de 60 à 97% (moyenne à 89,2%) tandis que la concentration en HbA alternait de 3 à 31 % (moyenne à 10,8%). Cependant, la concentration en HbF chutait rapidement jusqu'à une valeur de moins d'1% à 23 semaines (10).

#### **I.1.5. Le métabolisme érythrocytaire**

### **I.1.5.1. Biochimie érythrocytaire**

La consommation de glucose est de 0,6 à 0,7  $\mu\text{mol/ml/h}$  par globule rouge. Le glucose est la principale source d'énergie des érythrocytes par la glycolyse (95%). Cependant, la voie des pentoses phosphates peut aussi être une autre source d'énergie (5%) (7). 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-dépendante maintient ce ratio  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  intra-érythrocytaire (5).

### **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 constamment 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 réduite par la NADH méthémoglobine-réductase, ce qui permet une nouvelle fixation du dioxygène (4). L'augmentation de la teneur en méthémoglobine est à l'origine de l'apparition de corps de Heinz (Figure 2). 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 (7).

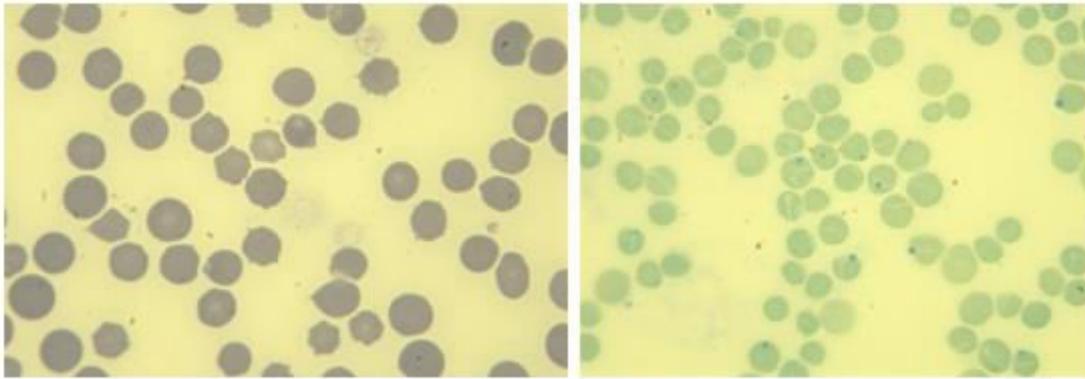


Figure 2: Hématies de chats avec des corps de Heinz colorés au MGG (à gauche) et au Bleu crésyl (à droite) x100 (D'après Pr Fournel, VetAgro Sup)

### **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'apparition d'une anémie hémolytique. Ceci est dû au métabolisme particulier des ruminants et aux transformations possibles de certains éléments non toxiques en substances toxiques par leur microflore digestive. Ainsi, quand les aliments contiennent une large teneur en nitrates ou en nitrates fertilisés, ceux-ci sont réduits par la microflore en nitrites qui, lorsqu'ils sont absorbés, oxydent l'oxyhémoglobine en méthémoglobine sans forcément former 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 (4).

Les leucocytes constituent la 2e catégorie de cellules observées 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 principaux représentants des granulocytes. Ils circulent une dizaine d'heures dans le sang et peuvent survivre 1 à 4 jours dans les tissus (11).

#### **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 3). Le cytoplasme contient de nombreuses granules rosâtres, semblables à des grains de poussière, pouvant apparaître aussi rougeâtres selon les conditions de coloration (3). Ces granules contiennent différentes substances biochimiques et sont séparées soit en granules azurophiles soit en granules spécifiques (7).

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 (4).

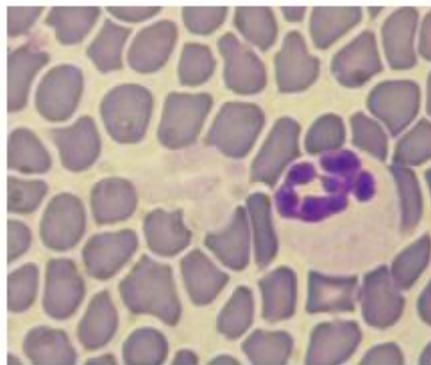


Figure 3 : PNN mature chez un bovin (à droite) (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup)

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

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

Le neutrophile non segmenté possède un noyau à une seule bande (3). C'est une cellule immature rarement 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

identique 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 (12).

#### **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 (3). Le noyau est petit et condensé avec des indentations variables et peut parfois avoir une forme de haricot. La membrane nucléaire est lisse. Le cytoplasme tend à être bleuâtre et contient 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 (1). 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 (13). 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 (11). Enfin, ils peuvent participer à la cytotoxicité à médiation cellulaire anticorps-dépendante (ADCC) ou libérer diverses cytokines intervenant dans la régulation 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 (7), (11).

#### **I.2.3. Modification de la répartition des neutrophiles en réponse à une inflammation**

La courbe d'Arneth est une courbe qui donne la répartition des PNN en fonction de leur lobation (Figure 4). Le nombre de lobes du noyau augmente lors de la maturation et du

vieillessement. Les PNN immatures sont situés sur la gauche tandis que les PNN les plus anciens vers la droite. L'identification des neutrophiles toxiques avec une déviation de la courbe d'Arneth vers la gauche est un pré-requis dans le diagnostic d'un processus inflammatoire et du pronostic concernant l'état de santé d'un bovin (12).

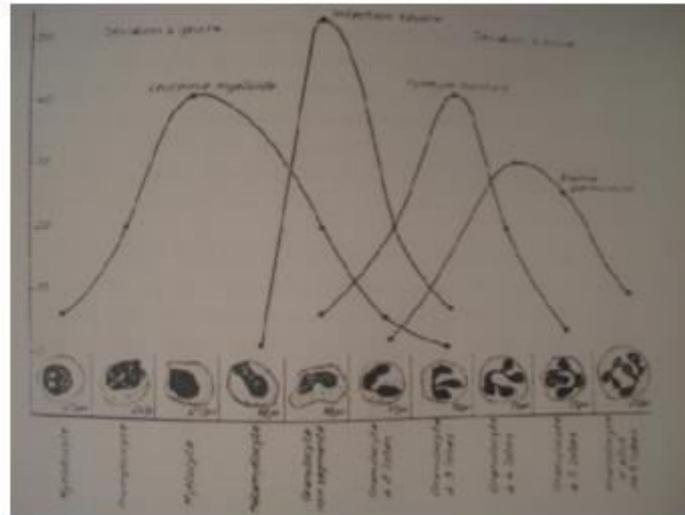


Figure 4 : Courbe d'Arneth pour un être humain (D'après Pr Fournel, VetAgro Sup)

En début de processus inflammatoire, les neutrophiles matures quittent le sang périphérique circulant et migrent vers le site de la lésion. Une neutropénie se met alors en place. En effet, la moelle osseuse des bovins n'a qu'une faible réserve en neutrophiles par rapport aux autres espèces et par conséquent des neutrophiles immatures apparaissent dans le sang. Une chute de la numération leucocytaire totale est commune au développement du processus inflammatoire (3).

Le changement de profil est dû à une inflammation sévère avec souvent une prolifération de bactéries à gram négatif. Ces changements toxiques se font dans la moelle osseuse. Il est alors possible d'observer des corps de Döhle dans le cytoplasme. Ce sont des granules bleues contenant du réticulum endoplasmique rugueux résultant d'une mauvaise maturation du cytoplasme. On peut aussi remarquer la présence de granulations toxiques, une basophilie cytoplasmique diffuse due à la présence de neutrophiles immatures et de métamyélocytes,

des formes géantes bizarres, une vacuolisation cytoplasmique ou un cytoplasme mousseux (3), (12).

### **I.3. Les polynucléaire éosinophiles**

Les PNE sont le deuxième type de granulocytes présents 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 facilement reconnaissables que les PNN au microscope optique. Leurs granules vont attirer l'éosine et les PNE ont une couleur qui varie du rougeorangé au rose (2). La présence de PNE en grande quantité dans le sang est associée à des conditions particulières 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 (14).

#### **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 5). 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 (3). 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 (7). 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 (14).

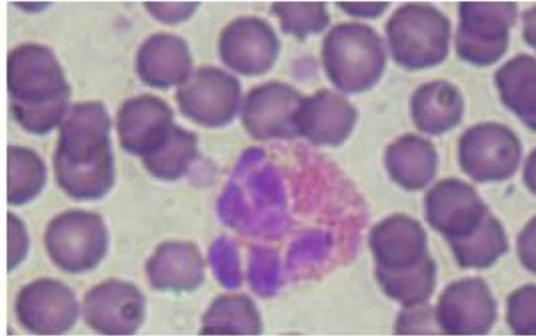


Figure 5: Polynucléaire éosinophile chez un bovin adulte (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup)

### 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 (1). Le rôle principal des éosinophiles est de limiter et de modifier les effets attribués à la libération de facteurs inflammatoires et allergiques (histamine, bradykinine...) (7). 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 (12).

Leur rôle antiparasitaire contre les helminthes est aussi connu (14). Les PNE participe aussi à 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 superoxyde qui se retrouve en plus grande quantité dans les PNE que dans les PNN (7). Les PNE sont notamment connus pour être les effecteurs majeurs de dommages tissulaires dans la phase tardive des maladies allergiques telles que l'asthme (14).

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 (14).

#### **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 (2). 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 (15).

##### **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 (Figure 6). Ainsi, la véritable forme du noyau n'est pas réellement visible (3).

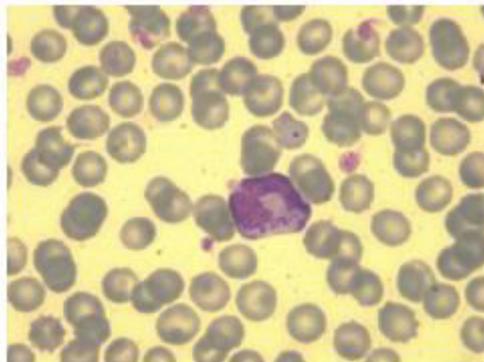


Figure 6: Polynucléaire basophile chez un chien x100 (D'après Pr Fournel, VetAgro Sup)

##### **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 (15). 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 (12). 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 (15).

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 (3). 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 (16).

#### **I.5.1. Morphologie (3)**

##### **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 7). 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.

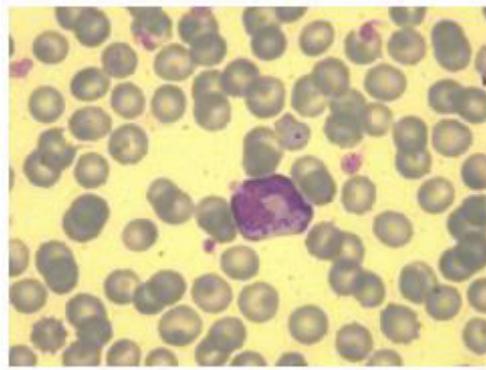


Figure 7 : Petit Lymphocyte chez un veau (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup)

#### **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 peut 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 8).

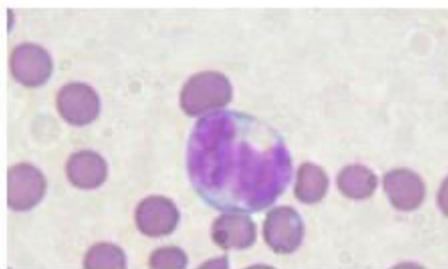


Figure 8 : Grand Lymphocyte chez un bovin adulte

(D'après Pathologie du bétail, VetAgroSup)

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 regroupées et ne sont pas réparties de manière homogène dans le cytoplasme. Cependant, ce type de lymphocytes est rare.

## **I.5.2. Rôles (16)**

### **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 paracorticales 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:

o les LTh1 qui induisent une immunité à médiation cellulaire et qui jouent un rôle dans l'hypersensibilité retardée ou de type IV,

o les LTh2 qui induisent une immunité à médiation humorale et qui jouent un rôle dans l'hypersensibilité immédiate ou de type I.

- Des LT suppresseurs (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 anticorpsdépendants. 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).

### **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 (17).

### **I.6.1. Morphologie (3)**

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 9). 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 petites et fines granules non distinctes 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.

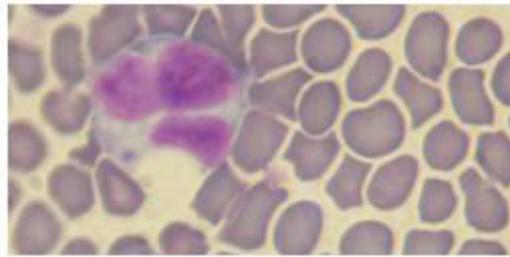


Figure 9 : Monocyte chez un veau (D'après Pathologie du bétail, VetAgro Sup)

### **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 liés à certaines maladies virales (1). 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 liés aux antigènes. Les monocytes sécrètent aussi des cytokines et participent à la régulation de l'inflammation (7).

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 (12).

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 simplement des fragments de cellules. Néanmoins, ces éléments sanguins jouent un rôle très important dans l'intégrité vasculaire et dans le maintien de l'homéostasie (1).

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

Souvent petites, elles peuvent aussi avoir la taille d'un érythrocyte, on parle alors de plaquettes géantes. Elles apparaissent regroupées 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 (3).

### **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 réparer l'endothélium lésé. En effet, la fonction primaire des plaquettes est l'hémostase. Il se forme alors un caillot flexible commun avec les facteurs de coagulation dans le but de maintenir une intégrité du système circulatoire (1).

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 (7).

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. Les protéines totales**

Le fluide matriciel est composé d'un mélange complexe de protéines et d'autres éléments (enzymes, facteurs de coagulation...) dans un milieu aqueux à pH et pression osmotique contrôlés. Par ailleurs, la pression osmotique sanguine est aussi appelée pression oncotique

Le plasma correspond au fluide matriciel dans lequel vont circuler les cellules sanguines (1).

Il contient de l'albumine et des globulines ainsi que le fibrinogène et les facteurs de coagulation. Le plasma est constitué de deux composants majeurs (2) :

- L'eau : Elle représente 92 à 95% du volume plasmatique.
- Les solides : Ils représentent 5 à 8% du volume plasmatique. La majorité de ces solides sont des protéines si l'on se base sur le rapport poids moléculaire/volume.

Mais, Il y a aussi du glucose, de l'urée, des électrolytes, et d'autres produits chimiques.

En général, la composition du plasma est identique à celle du liquide extracellulaire (2). Le

sérum correspond au plasma dépourvu du fibrinogène et des facteurs de coagulation (18).

### **I.8.1. Métabolisme**

Les protéines sont des chaînes polypeptidiques d'acides aminés. Plus de 1000 protéines ont été répertoriées dans le sérum. Cependant, la plupart ne sont pas des protéines pures, ce sont des protéines combinées à d'autres substances. Par exemple, les lipoprotéines sont composées de protéines, de triglycérides et de cholestérol (18). La majorité d'entre elles est synthétisée par les hépatocytes. Le foie est le lieu de synthèse de l'albumine, des  $\alpha$ - et des  $\beta$ globulines. Les immunoglobulines (Ig) de type  $\gamma$ globulines sont une exception car elles sont fabriquées par les lymphocytes B et les plasmocytes (19).

Le temps de demi-vie d'une protéine est dépendant de l'espèce et en général inversement proportionnel à la taille de l'animal. Il y a un renouvellement continu des protéines plasmatiques circulantes du fait de leur catabolisme dans les tissus ou de leurs pertes dans les systèmes urinaires et digestifs. Les pertes protéiques doivent être compensées par un apport alimentaire et par la production d'autres protéines (19).

### **I.8.2. Rôles**

En addition à une large variété de fonctions spécifiques, les protéines contribuent surtout au maintien de la pression oncotique qui aide à conserver un certain volume liquidien intravasculaire (18). Les protéines assurent aussi un apport d'acides aminés aux différents tissus. Elles jouent un rôle dans la régulation de l'équilibre acido-basique. Elles assurent aussi le transport de molécules et d'ions. De plus, les protéines maintiennent l'homéostasie et régulent la réponse inflammatoire. Enfin, elles permettent une résistance aux infections par l'action des globulines (19).

La concentration en protéines dans le plasma est le reflet d'un équilibre entre les concentrations en protéines intravasculaires et extravasculaires. Cependant, elle ne prédit rien quand à la teneur totale en protéines du corps d'un animal (18). La concentration en protéines totales est affectée par la balance en eau et l'état de santé d'un animal. Une déshydratation entraîne une perte liquidienne et une hyperprotéinémie. Des hémorragies externes sont à l'origine à la fois de pertes de cellules sanguines et de protéines. De plus, le fluide extracellulaire entre rapidement dans les vaisseaux sanguins pour maintenir une pression vasculaire suffisante ce qui provoque une hypoprotéinémie avec perte d'albumine et de globulines (19).

### **I.8.3. Les différentes protéines plasmatiques**

#### **I.8.3.1. L'albumine**

L'albumine est la plus abondante des protéines plasmatiques et constitue en général 35 à 50% des protéines sanguines d'un animal. Elle assure l'apport d'acides aminés aux tissus et se lie et transporte de nombreuses molécules ou des ions. Cette protéine permet aussi de réguler la pression osmotique. Le temps de demi-vie de l'albumine est inversement proportionnel à la taille de l'animal. Il est d'environ 2 à 3 semaines chez les bovins avec une moyenne à 16,5 jours (18).

#### **I.8.3.2. Les globulines : protéines de la phase aiguë de l'inflammation**

L'inflammation ou des dommages tissulaires provoquent le largage de cytokines proinflammatoires qui altèrent la concentration sanguine de nombreuses protéines produites dans le foie. Ce dernier va produire moins de transferrine et d'albumine mais plus de protéines de la phase aiguë de l'inflammation. Par exemple, l' $\alpha_2$ -macroglobuline est une protéine dont la teneur s'élève chez les bovins lors de l'infection par *Pasteurella haemolytica* ou par l'action des toxines de cette bactérie. En temps normal, la concentration des

protéines de la phase aiguë de l'inflammation est faible voire nulle. Leurs élévations sont donc utiles dans le diagnostic d'une inflammation aiguë (18).

### **I.8.3.3. Les immunoglobulines**

Les Ig sont les principales protéines plasmatiques. Elles peuvent être mesurées facilement et donner des informations sur l'état clinique d'un individu. La production des Ig est restreinte aux cellules lymphoïdes de type B. Cinq gènes de chaînes lourdes ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\alpha$  et  $\epsilon$ ) sont présents chez les mammifères. Ces différents gènes déterminent la classe de l'immunoglobuline ou son isotype (IgM, IgD, IgG, IgA et IgE) (20) :

### **I.8.3.4. Le fibrinogène et les haptoglobines**

Le fibrinogène est une protéine plasmatique produite par les hépatocytes. Les haptoglobines sont des protéines qui se lient à l'hémoglobine libre dans le plasma une fois que l'hème a été résorbé. Ces deux protéines sont comme les globulines, des protéines de la phase aiguë de l'inflammation. Chez les bovins, le fibrinogène reste pour l'instant l'indicateur plus utilisé cliniquement (18).

## **II-les maladies infectieuses des bovins :**

### **II-1- maladies bactériennes :**

Les bactéries incriminées ont pour nom *Brucella abortus* et *Brucella melitensis*. Ce sont des cocobacilles Gram négatif, immobiles, non encapsulés et non sporulés, mis en évidence par la coloration de Stamp.

Elles sont très résistantes dans le milieu extérieur (35 jours en pâture ombragée et 8 mois dans le lisier). Néanmoins elles ne résistent pas aux désinfectants usuels et à la chaleur.

La brucellose atteint le plus souvent les jeunes vaches à leur puberté. Une fois contaminés, les animaux restent le plus souvent infectés toute leur vie. Après la contamination de l'animal via les muqueuses, les brucelles vont d'abord se multiplier dans les ganglions

situés à proximité de la porte d'entrée de l'infection puis vont se disséminer par voie lymphatique et sanguine. L'utérus gravide est l'une des localisations les plus fréquentes des brucelles. Chez les animaux atteints par la brucellose, on observe alors une placentite qui altère la vascularisation du fœtus et le soumet donc à une anoxie, elle-même à l'origine d'une septicémie. L'infection du fœtus in utero est donc responsable chez celui-ci d'une septicémie mortelle et donc de l'avortement. La durée minimale d'excrétion des bactéries est alors estimée à trois semaines après le vêlage. Néanmoins la multiplication des brucelles (et donc la contagiosité) est réactivée chez ces animaux lors de tout stress (comme une gestation) (67,90). Les vaches sont donc spécialement sensibles (ou excrétrices) aux brucelles au moment du peripartum.

### ➤ **Les salmonelloses**

Les cas d'avortements dus à la salmonellose sont surtout observés chez les génisses au pâturage, pendant leur sixième, septième et huitième mois de gestation. Ils sont plus souvent observés dans les troupeaux laitiers que dans les troupeaux allaitants. Toutes les salmonelles peuvent provoquer des avortements. Cependant *Salmonella* Dublin et *Salmonella* Typhimurium qui ont un tropisme marqué pour l'appareil génital, sont souvent isolées dans les cas d'avortement à salmonelle. *Salmonella enteritidis* et *Salmonella abortusovis* sont quant à elle rencontrées plus rarement. Les Salmonelles sont des entérobactéries Gram négatif très résistantes dans le milieu extérieur (jusqu'à un mois dans l'eau) (67,90).

La contamination par voie orale est la plus fréquente : cependant une contamination par voie respiratoire a aussi été décrite (67).

On observe souvent une entérite aiguë quelques jours avant les avortements (90).

Les salmonelles semblent faire partie de la flore digestive normale chez de nombreuses vaches et ne provoquer aucun problème dans un premier temps. C'est seulement lorsque cet équilibre est rompu que les salmonelles prolifèrent et expriment leur pouvoir pathogène. Ainsi un déséquilibre dans l'alimentation en période de tarissement peut-il causer un affaiblissement chez la vache laitière et surtout un déséquilibre de la flore intestinale et donc une salmonellose (68).

Les salmonelles pénètrent alors la muqueuse iléale et se propagent à tous les organes par voie sanguine. Cette septicémie salmonellique peut alors être aggravée par la libération

d'endotoxines. La septicémie atteint alors le fœtus et ses annexes et entraîne donc un avortement (67).

Après l'interruption de la gestation, les bactéries sont excrétées par voie génitale pendant 18 jours et certaines vaches peuvent devenir porteuses asymptomatiques. La lutte contre la salmonellose est d'autant plus importante que celle-ci serait impliquée dans la transmission à l'homme de souches multirésistantes aux antibiotiques (90).

#### ➤ **La fièvre Q (ou coxiellose)**

La fièvre Q semblerait être à l'origine de 1 à 3 % des avortements chez les bovins (90).

Cette affection est due à *Coxiellaburnetii*, bactérie faisant partie du groupe des rickettsies et très résistante dans le milieu extérieur (jusqu'à 7 mois dans la poussière, 586 jours dans les excréments de tiques, sept jours dans l'eau à température ambiante). Elle résiste aussi aux agents chimiques (ammoniums quaternaires et désinfectants usuels) et physiques (UV, ultrason et variation de pH) (40, 67,77).

La contamination se fait par voie orale ou par inhalation de matière virulente l'infection par la fièvre Q provoque une placentite puis une anoxie ainsi qu'une septicémie fœtale responsable d'avortement à tous les stades de gestation. Cependant elle provoque plus souvent des vêlages prématurés et des épisodes de métrites chroniques dans les troupeaux.

L'excrétion bactérienne semble être maximale dans le mucus vaginal et les produits de la parturition. Celle-ci persiste jusqu'à trois semaines après le vêlage. Néanmoins les mécanismes régissant l'excrétion des bactéries ne semblent pas encore totalement élucidés (40,67, 77,90).

#### ➤ **La listériose**

La listériose est une zoonose dont la présence en élevage peut être à l'origine de cas de listériose humaine. Même si la contamination humaine a rarement une origine animale, on tente de limiter au maximum la présence de cette bactérie en élevage car cela pourrait être à l'origine de la contamination des produits alimentaires destinés à l'alimentation humaine (65).

La listériose peut provoquer des avortements situés entre le quatrième et le huitième mois de gestation. *Listeria monocytogenes* est la bactérie la plus souvent incriminée C'est une cocobacille Gram positif, anaérobie facultatif. Ce sont des bactéries très résistantes qui survivent facilement dans les ensilages mal réalisés et entretenus à pH alcalins (de 5,6 à 9,6) et à des températures allant de 2 à 45°C. Elles peuvent vivre plus de 2 ans dans un sol sec. Elles sont de plus très résistantes aux ensembles de procédés tels que les congélation et décongélation (65, 67,90).

Les vaches se contaminent par voie orale, en se nourrissant d'ensilages contaminés.

L'infection se développe principalement en cas d'immunodépression chez la vache (causée par une carence alimentaire (en vitamine A par exemple), un changement brusque de climat, une gestation, un stress). Dans l'intestin on observe une multiplication des *Listéria* dans les entérocytes, celle-ci est suivie par la destruction des cellules intestinales et donc d'une bactériémie. Par les mêmes mécanismes de placentite puis de septicémie fœtale, un avortement se produira dans les vingt quatre heures suivant la bactériémie et dans les cinq à dix jours suivant la contamination par un ensilage contenant des *Listéria* (65, 67,90). En cas d'infection tardive une mortalité ou la naissance d'un jeune développant rapidement une septicémie fatale peut être observée (65).

## **II-2-maladie viral :**

### **a) Infection par le virus de la diarrhée virale bovine (BVD-MD) :**

Le virus responsable de BVD-MD a été décrit pour la première fois en 1946. C'est un virus à ARN de la famille des flaviviridae, du genre pestivirus (55, 67,90). Initialement il avait été associé à la maladie des muqueuses, mais des recherches réalisées ces dix dernières années ont permis de mettre en évidence l'action de ce virus sur la reproduction (55). Les animaux porteurs de l'infection peuvent ne présenter ni symptôme, ni lésion. L'infection par ce pestivirus est relativement fréquente (70 à 90% des troupeaux de l'ouest de la France en 1997) et polymorphe. Les conséquences d'une infection par BVD-MD sur l'appareil reproducteur sont dépendantes de la souche (cytopathogène ou non) et du moment de l'infection. Les

différents symptômes provoqués par ce pestivirus sont présentés dans la figure 1

**.b) Infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) :**

Les premiers cas d'IBR en France ont été découverts suite aux importations de bovins de race holstein en provenance du Canada (90). Le virus responsable de la rhinotrachéite infectieuse est un herpesvirus (l'herpesvirus bovin 1 BHV-1). Ce virus est très peu résistant dans le milieu extérieur. Il est désactivé par les désinfectants communément utilisés (ammonium quaternaire). Il existe trois souches qui ont chacune un tropisme différent (génital,

pulmonaire et nerveux). Mais les trois sont susceptibles d'engendrer des avortements.

La contamination par le virus de l'IBR se fait par voie intra-nasale. Les premiers symptômes se déclarent le plus souvent dans les quinze jours à deux mois suivant la contamination. Après inoculation, le virus se multiplie dans les cellules épithéliales des muqueuses respiratoires et génitales, puis il se propage à d'autres localisations pouvant provoquer ainsi des avortements. Ceux-ci apparaissent deux à trois semaines après une contamination ou après l'expression de symptômes respiratoires. Ils surviennent dans tous les cas

après le 150<sup>ème</sup> jour de gestation. En cas d'infection plus précoce, le virus se localise sous forme

latente dans le placenta, puis lorsque le fœtus devient réceptif au pouvoir pathogène du virus (vers le 150<sup>ème</sup> jour), celui-ci est autolysé, momifié ou retrouvé avec des lésions de nécrose hépatique, rénale et splénique (67,90).

De plus d'autres herpesvirus bovins ont été occasionnellement isolés de fœtus bovins avortés. Le BHV-5 et le BHV-4 sont soupçonnés d'être occasionnellement responsables d'avortements dans l'espèce bovine en peripartum. Cependant si le rôle abortif du BHV-5 a été prouvé, il semble que dans le cas du BHV-4 ce ne soit pas le cas. Il paraît surtout

responsable d'infections subcliniques du tractus génital (métrite postpartum, vulvovaginite)(67,92).

### **III-Diagnostic hemato-biochimique des maladies Infectieuse chez le bovins :**

#### **III-1 Propédeutique des différents paramètres sanguins**

Les références établies pour mesurer les constituants sanguins que nous venons de décrire, représentent l'hémogramme. Ce chapitre tend à énumérer et à démontrer l'intérêt des paramètres sanguins dans l'interprétation des résultats d'une analyse. Nous allons détailler chacune des références hématologiques en les regroupant selon la lignée rouge, blanche ou plaquettaire, puis les différentes méthodes de mesure relatives à celles-ci. Ensuite, nous évoquerons les erreurs de mesure qui peuvent être rencontrées en fonction de la technique de prélèvement ou d'analyse.

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

Un système international d'unités a été adopté en 1960 pour limiter les confusions concernant l'interprétation des résultats entre les différents laboratoires (21).

Ces unités ont été reprises par la suite et mises à jour (18). Les unités que nous allons citer 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).

##### **III.1.1.1. L'hématocrite**

L'hématocrite correspond à la contraction d'hemato- (sang) et de -crit (séparation). Quand il

a été décrit la première fois, le terme d'hématocrite était le nom de la procédure pour séparer le sang en ses composants majeurs : les érythrocytes empilés, la couche du buffycoat et le plasma. La couche du buffycoat 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 (18).

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 (18).

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 (22).

### **III.1.1.2. 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 (2).

### **III.1.1.3. 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 note une chute du taux d'hémoglobine sans qu'il n'y ait de diminution du nombre de globules rouges (2).

### **III.1.1.4. Les indices érythrocytaires de Wintrobe**

Le VGM, la CCMH et la TGMH sont utilisés afin de caractériser les érythrocytes circulants dans le sang périphérique. Ils servent aussi de base à la classification des différentes anémies(2).

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(22).

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 (23).

D'autres auteurs ont établi des références qui font intervenir les facteurs âge et race (3), (4).

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.

#### **III.1.1.4.1. Le VGM**

Le VGM correspond au volume moyen des érythrocytes exprimé en femtolitre (fl) ou en  $\mu m^3$ .

Ce paramètre nous est utile dans la caractérisation des anémies microcytaires, normocytaires ou macrocytaires (2).

#### **III.1.1.4.2. 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 (2). Il est possible d'observer une anémie hypochrome quand les valeurs sont inférieures à 30 g/dl. Ce genre d'anémies peut être lié 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 conclure 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 artéfact de laboratoire (23).

#### **III.1.1.4.3. La TGMH**

La TGMH correspond à la quantité moyenne d'hémoglobine par érythrocyte, exprimée 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 (2).

#### **III.1.1.4.4. Les formules de Wintrobe**

Il existe des formules qui permettent de relier les différents paramètres érythrocytaires entre eux. Ces formules sont généralement utilisées par les automates de mesure de la variation d'impédance (cf II.6.3) afin de calculer certains résultats (2).

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] x 10)/ [GR]).

#### **III.1.1.5. 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 :  $IDR = (\text{déviation standard du VGM} / \text{VGM}) \times 100$  (18).

#### **III.1.2. 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.

##### **III.1.2.1. 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<sup>6</sup>/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 (2).

##### **III.1.2.2. 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:  $[PNN] = \%PNN \times [Leucocytes]$ ). 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 vetautoread®) soit de manière quantitative (ex : les appareils de mesure utilisant la méthode de la cytométrie de flux) (cf. II.6) (2).

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 pauvre 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 (18).

### **III.1.2.3. 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.

#### **III.1.2.3.1. La numération plaquettaire**

Elle correspond au nombre de plaquettes par unité de volume sanguin exprimée en  $10^3/\mu l$  (SI :  $10^9/l$ ). Dans le vocabulaire clinique, elle est l'équivalent du comptage plaquettaire (2).

#### **III.1.2.3.2. Le volume plaquettaire moyen**

Tout comme le VGM il s'exprime en 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 (cf. II.7.4) (2).

#### **III.1.2.3.3. 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 (18).

#### **III.1.2.3.4. Le thrombocrite (TCT)**

Il est exprimé en % ou en 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 (18).

#### **III.1.2.4. Les protéines totales**

Les constituants du fluide matriciel peuvent aussi être mesurés ou calculés. En médecine vétérinaire rurale, la concentration en protéines totales reste souvent la seule référence mesurée lors d'une analyse hématologique.

La mesure de la concentration en protéines totales s'effectue en général à l'aide d'un réfractomètre. Elle s'exprime en g/dl (2). D'autres techniques permettent d'obtenir plus spécifiquement les concentrations en globulines, en albumine et en fibrinogène. Parmi

celles-ci, l'électrophorèse des protéines est la méthode la plus utilisée. Cependant, la mesure de la concentration de chaque fraction protéique est peu réalisée en médecine vétérinaire rurale (18). D'autre part, l'analyse des autres constituants du fluide matriciel (ex : glucose, urée...) s'apparente à la biochimie et non à l'hématologie. Elle ne sera pas discutée ici.

Nous venons de définir l'ensemble des paramètres utilisés en hématologie. Ils peuvent être mesurés ou calculés en fonction de la méthode ou de l'automate d'analyse utilisés. Avant de s'intéresser aux différentes méthodes d'analyse des paramètres hématologiques, il convient de traiter rapidement des possibilités de réalisation d'un prélèvement sanguin. Plusieurs sortes d'anticoagulant peuvent être utilisées pour conserver le prélèvement.

#### **III.1.2.5. 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.

##### **III.1.2.5.1. L'acide éthylène diamine tetra 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 (2).

##### **III.1.2.5.2. Le citrate**

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

##### **III.1.2.5.3. Les oxalates**

Ils sont utilisés pour des analyses spécifiques de laboratoire. Ils modifient généralement la forme des leucocytes et des érythrocytes (2).

##### **III.1.2.5.4. 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 (2).

#### **III.1.2.5.5. 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  $\times 1,1$ . 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 spécifiques telles que l'analyse des gaz sanguins. Cependant, elle sert aussi à la réalisation d'analyses biochimiques (2).

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 leurs formes 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 (2), (24). 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  $4^{\circ}\text{C}$ . Si des agrégats plaquettaires sont observés les valeurs doivent être considérées comme un minimum (18).

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 (cf. II.6.3), l'EDTA induit une augmentation artéfactuelle et temps-dépendant 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 (cf II.6.7.1.3) (18).

## **Conclusion**

L'hématologie bovine est actuellement bien connue, et de nombreux ouvrages sont à la disposition des praticiens. De même les examens complémentaires sont souvent faciles à mettre en œuvre, au chevet du malade comme à la clinique, la plupart des vétérinaires possédant des analyseurs.

Cependant ces examens sont peu utilisés par les praticiens, qui ont souvent recours au diagnostic thérapeutique.

De par leur simplicité et l'aide évidente qu'ils peuvent apporter dans le diagnostic différentiel de nombre de maladies, ils mériteraient d'être plus utilisés et développés dans les cabinets.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ACHARD D. Exploration des affections hépatiques chez la vache laitière, apport des examens complémentaires ; détermination des valeurs usuelles sanguines en ASAT, GDH,  $\gamma$ GT et bilirubine totale ; application au diagnostic de l'ehrlichiose bovine. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Nantes 2005, 105p.
2. ANDRE-FONTAINE G. La leptospirose bovine. Intérêt de la vaccination dans la lutte. Proceedings des Journées nationales des GTV Nantes 2007 : 331-335.
3. ANDRE-FONTAINE G, KODJO A. Leptospiroses et troubles de la reproduction. Proceedings des Journée nationales des GTV Nantes 2007 : 327-330.
4. BOSCHER MY, GUERIN-FAUBLEE V. Les groupes sanguins chez les bovins. La maladie hémolytique du nouveau né et les accidents transfusionnels d'origine immunologique. Le point vétérinaire 1994 ; 25 : 29-32
5. BOSCHER MY, MERIAUX JC. Les groupes sanguins comme outil d'identification et de sélection des équins et des ruminants. Le point vétérinaire 1994 ; 25 : 33-38.
6. BOURDOISEAU G, L'HOSTIS M. Les babésioses bovines. Le point vétérinaire 1995 ; 27 : 33-39.
7. BOYARD C, GASQUI P, BARNOUIN J, VOURC'H G. Comment diminuer le risque de maladies transmises par les tiques chez les bovins au pâturage. Proceedings des journées nationales des GTV Nantes 2007 : 199-205.
8. BUSSIERAS J, CHERMETTE R. Abrégé de parasitologie vétérinaire. Fascicule 2 :  
protozoologie vétérinaire. Polycopié de l'unité de parasitologie de l'ENVA 1992, 186p.

9. BYARS TD, DIVERS TJ. Clinical use of blood transfusions. California vétérinarian 1981;

1 : 14-16.

10. CHAUVIN A, BONNET S, JOUGLIN M, KLEGOU G, L'HOSTIS M. Infections à Babesia

spp. : interactions entre bovins, humains et chevreuils. Proceedings des journées nationales

des GTV, Nantes 2007, 833-836.

11. CHAUVIN A, MALANDRIN L, CESBRON N, L'HOSTIS M. Les hémoprotozooses des bovins en France. Proceedings des journées européennes, société française de buiatrie 2008 : 31-34.

12. CHUZEL T. Le frottis sanguin : ses apports et ses limites. Le point vétérinaire 2003 ; 235 :28-35.

13. CORDONNIER N, FONTAINE JJ. Cours d'histologie générale. Hématologie. Polycopié de l'unité d'anatomie pathologique de l'ENVA 2001, 73p.

14. DAWSON H, HOFF B, GRIFT E, TVEDTEN H, SHOUKRI M. Validation of the coulter

AcTDiff hematology analyser for analysis of blood of common domestic animals.

Veterinary clinical pathology 2000; 29(4) : 132-136.

15. DOLAN TT. Theileriasis : a comprehensive review. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 1989 ; 8(1) : 11-36.

16. DOUART A, ASSIE S, MAILLARD R. Les ictères bovins. Proceedings des journées européennes, société française de buiatrie 2008 : 25-29.

17. DOXEY DL. Hematology of the ox. In ARCHER RK, JEFFCOTT LB. and LEHMANN H. Comparative clinical hematology 1977. 1st ed. Blackwell scientific publications: 216-169.
18. ELLIS WA. Recent developments in bovine leptospirosis. Vet. Anne. 1986; 23: 91-95.
19. ELLIS WA, O'BRIEN JJ, BRYSON DG, MACKIE DP. Bovine leptospirosis. Some clinical features of serovar hardjo infection. Vet. Rec. 1985 ; 117 : 101-104.
20. FREY C. Obtention et conservation des dérivés sanguins. Application à la constitution d'une banque de sang pour l'espèce canine à l'ENVA. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Alfort 2009, 102p.
21. GANIERE JP. L'anaplasmosse bovine : une arborickettsiose émergente. Le point vétérinaire 2002 ; 227 : 20-21.