

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 :**

**MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES**  
**CHEZ LE CHIEN**

Présenté par :

❖ **Beladam Fatima Zohra**

Encadre par :

**Dr. Hemida Houari**

Année universitaire : 2018–2019

## **REMERCIEMENTS**

*En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire, je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements :*

*- A DIEU tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces années d'étude.*

*- A Monsieur HEMIDA.H Université de TIARET car ce modeste travail n'aurait pu être fait sans son soutien indéfectible tout au long de l'année pour la mise sur pied de ce mémoire.*

*- A madame SMAIL FADILA pour son aide à la réalisation des frottis sanguins.*

*- Je n'oublie pas d'adresser mes vifs remerciements à toute ma promotion pour les sens de fraternité, et de concurrence qui nous ont tenus debout pendant toute la formation.*

## **DEDICACES**

*Au Nom D'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux. Gloire à Allah, qui nous a permis de réaliser ce modeste travail. Que la paix et la bénédiction d'Allah soient sur le Prophète Mohamed, sa famille et ses compagnons.*

*Je dédie ce modeste travail ...*

*A mes parents : Je vous dois tout. Ce travail est le résultat d'innombrables sacrifices que vous avez consenti pour notre éducation et notre formation. Acceptez-le comme cadeau en remerciement de votre patience et pour la confiance que vous nous avez toujours accordé.*

*Longue vie !*

*Maman : ton amour et tes prières pour notre bien-être nous ont permis d'aller toujours de l'avant. Ce travail est le fruit de tes sacrifices. A travers toi, je remercie et je dédie ce travail à toutes les mamans.*

*A mes frères Nouredine, et Mohamed à mes sœurs pour notre attachement les uns aux autres, l'amour, le soutien et la complicité qui existent entre nous.*

*A mes Neveux et Nièces, vous êtes tous adorables. Que ce travail soit un exemple pour vous.*

*A mes meilleurs amis et mes promotionnaire du groupe scolaire et spécialement à Yacine Badr Eddine.*

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Schéma de l'érythropoïèse.	18
<b>Figure 2</b>	Schéma de la différenciation des cellules myéloïdes.	23
<b>Figure 3</b>	Schéma de la différenciation des cellules lymphoïdes.	24
<b>Figure 4</b>	Morphologie des cellules sanguines.	32
<b>Figure 5</b>	Image d'un schyzocyte au centre.	39
<b>Figure 6</b>	Frottis sanguin présentant des kératocytes.	39
<b>Figure 7</b>	Erythrocytes avec de corps de Heinz.	41
<b>Figure 8</b>	Frottis sanguin avec une importante variation cellulaire.	42
<b>Figure 9</b>	Exemple des codocytes	43
<b>Figure 10</b>	Exemple d'acantocytes	43
<b>Figure 11</b>	Frottis sanguin d'un chien présentant une anémie hémolytique auto-immune.	45
<b>Figure 12</b>	Des érythrocytes avec une large zone pale en leur centre et une fine bande périphérique de cytoplasme.	47
<b>Figure 13</b>	Hématies présentant corps de Howell-Jolly	48
<b>Figure 14</b>	Frottis sanguin présentant des érythrocytes nucléés.	50
<b>Figure 15</b>	Sang prélevé chez un chien atteint à Babesia canis.	52
<b>Figure 16</b>	Thrombocyte de volume légèrement ou fortement augmenté chez un chien.	54
<b>Figure 17</b>	Description des différentes étapes pour la préparation d'un frottis sanguin.	71
<b>Figure 18</b>	Exemple d'un frottis sanguin réussi.	71
<b>Figure 19</b>	Frottis sanguin d'un chien présentant des schyzocytes (fleche), <b>H&amp;E ,100X.</b>	73
<b>Figure 20</b>	Frottis sanguin d'un chien présentant des hématies en rouleaux <b>(flèche) H&amp;E ,100X.</b>	73
<b>Figure 21</b>	Frottis sanguin d'un chien présentant une macrocytose avec présence des vacuoles au niveau des érythrocytes qui n'étaient pas suffisamment séchés <b>H&amp;E ,100X</b>	74

<b>Figure 22</b>	Frottis sanguin d'un chien présentant de nombreux dacryocytes (flèche) <b>H&amp;E,100X</b>	74
<b>Figure 23</b>	Frottis sanguin d'un chien présentant une anisocytose et poikilocytose associée à une thrombocytose. <b>H&amp;E,100X.</b>	74
<b>Figure 24</b>	Frottis sanguin d'un chien présentant l'absence de paleurs centrale des érythrocytes et une thrombocytose. <b>H&amp;E,100X.</b>	75
<b>Figure 25</b>	Frottis sanguin d'un chien présentant une anisocytose. <b>H&amp;E,100X.</b>	75
<b>Figure 26</b>	Frottis sanguin d'un chien présentant de différentes formes d'hématies (en trèfle en poire) <b>H&amp;E,100X.</b>	75

### **Liste des tableaux**

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Valeurs usuelles des érythrocytes chez un chien.	34
<b>Tableau 2</b>	Valeurs usuelles du leucogramme de chien adulte.	35
<b>Tableau 3</b>	Causes et affections associées aux altérations cliniquement significatives des numérations thrombocytaires sanguines chez le chien.	53
<b>Tableau 4</b>	Modifications courantes de la numération leucocytaire différentielle.	56
<b>Tableau 5</b>	Les différentes anomalies de globules rouges trouvées durant la réalisation de l'étude.	72

## Sommaire

	<b>Titre</b>	<b>page</b>
	Remercîment	
	Dédicace	
	Liste des figures	
	Liste des tableaux	
	Sommaire	
	Introduction	11
	Chapitre 1	12
<b>I</b>	GENERALITES SUR LE SANG.	13
<b>I-1</b>	Organe hématopoïétique	13
<b>I-2</b>	Localisation de l'hématopoïèse	14
<b>I-3</b>	Schéma général de l'hématopoïèse	14
<b>I-3-1</b>	Compartiment des cellules souches indifférenciées :C.F.U.	15
<b>I-3-2</b>	Compartiment des cellules en voie de maturation.	16
<b>I-4</b>	Erythropoïèse	16
<b>I-4-1</b>	Phase de multiplication	16
<b>I-4-2</b>	Phase de maturation	17
<b>I-5</b>	Cellules souches	18
<b>I-6</b>	Lignée granulocytaire neutrophile	19
<b>I-6-1</b>	Phase de multiplication	19
<b>I-6-2</b>	Phase de maturation	20
<b>I-7</b>	Lignée granulocytaire neutrophile	20
<b>I-8</b>	Lignée granulocytaire basophile	21
<b>I-9</b>	Lignée monocytaire	21
<b>I-10</b>	Lignée mégacaryocytaire	21
<b>I-11</b>	Lymphocytopoïese	23
<b>I-12</b>	Régulation de l'hématopoïèse	24
<b>I-13</b>	Classification des cytokines hématopoïétique	24

<b>I-14</b>	Régulation de l'érythropoïèse	26
<b>I-15</b>	Régulation de la granulopoïèse et de la monocytopoïèse	26
<b>I-16</b>	Régulation de la thrombocytopoïèse	27
<b>I-17</b>	Régulation de la lymphocytopoïèse	27
<b>I-18</b>	Les éléments cellulaires sanguins normaux	28
<b>I-18-1</b>	Erythrocytes	28
<b>I-18-2</b>	Leucocytes	28
<b>I-18-2-1</b>	Neutrophiles	28
<b>I-18-2-2</b>	Neutrophiles non segmentés	29
<b>I-18-2-3</b>	Monocytes	29
<b>I-18-2-4</b>	Lymphocytes	29
<b>I-18-2-5</b>	Eosinophiles	30
<b>I-18-2-6</b>	Basophiles	30
<b>I-19</b>	Plaquettes	31
<b>I-20</b>	Valeurs usuelles	33
<b>I-20-1</b>	Valeurs usuelles des hématies	33
<b>I-20-2</b>	Valeurs usuelles des leucocytes circulants	34
<b>Chapitre II</b>		36
<b>II</b>	PATHOLOGIES DU SANG	37
<b>II-1</b>	Anomalies qualitatives du frottis sanguin	37
<b>II-1-1</b>	Altération de la morphologie des érythrocytes	37
<b>II-1-2</b>	Fragmentation	37
<b>II-1-3</b>	Lésion oxydative	39
<b>II-1-4</b>	Poikilocytose	41
<b>II-1-5</b>	Autres altérations morphologiques	42
<b>II-1-6</b>	Lésion à médiation immune des érythrocytes	43
<b>II-2</b>	Erythrocytes de taille anormale	45
<b>II-3</b>	Altération de la coloration des érythrocytes	47
<b>II-3-1</b>	Polychromatophiles	47

<b>II-3-2</b>	Hypochromasie	47
<b>II-3-3</b>	Corps de Howell-Jolly	48
<b>II-3-4</b>	Ponctuation basophiles	48
<b>II-3-5</b>	Erythrocytes nucléés	49
<b>II-4</b>	Parasites érythrocytaires	50
<b>II-4-1</b>	Les babésioses	50
<b>II-4-2</b>	Babesiaspp	50
<b>II-5</b>	Altération de la morphologie et du nombre de plaquette	52
<b>II-6</b>	Altération des leucocytes	55
<b>II-6-1</b>	Modification du nombre de leucocytes	55
<b>II-7</b>	Altération de la morphologie des leucocytes	57
<b>II-7-1</b>	Modifications neutrophiliques d'origine toxique	57
<b>II-7-2</b>	Granulocytes immatures	58
<b>II-7-3</b>	Anomalie de Pelger-Huet	59
<b>II-7-4</b>	Neutrophiles hypersegmentés	60
<b>II-7-5</b>	Lymphocytes réactifs	60
<b>II-7-6</b>	Mastocytes	61
<b>II-7-7</b>	Figure mitotiques	61
<b>II-7-8</b>	Inclusions au sein des leucocytes	61
<b>II-7-9</b>	Leucémie	63
<b>II-7-10</b>	Leucémies lymphoïdes	65
<b>II-7-12</b>	Leucémie myéloïdes	66
<b>II-7-12</b>	Leishmaniose canine	66
<b>III</b>	Partie expérimentale	68
<b>III-1</b>	Présentation de région d'étude	69
<b>III-2</b>	Matériels et méthodes	69
<b>III-3</b>	Réalisation d'un frottis sanguin	69
<b>III-4</b>	Prise des photos	71
<b>III-5</b>	Résultat et discussion	71

<b>III-6</b>	Discussion	76
<b>III-7</b>	Conclusion	78
<b>III-8</b>	Résumée	78

## Liste des Abréviations

<b>C.F.U :</b>	Colony Forming Unit
<b>C.F.S :</b>	Colony-Stimulating-factors
<b>IL :</b>	Interleukine
<b>HB :</b>	Hémoglobine
<b>HT :</b>	Hématocrite
<b>MGG :</b>	May-Grünwald-Giemsa
<b>NG :</b>	Numération globulaire
<b>VGM :</b>	Volume globulaire moyen
<b>CCMH :</b>	Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

# Introduction

Grace à l'examen du frottis sanguin, l'évaluation générale de la santé du patient a beaucoup progressé. Le frottis sanguin fait désormais partie des bilans hématologiques conventionnels et est réalisé au cours de pratiquement toutes les analyses de laboratoire de routine. Il permet de déterminer la numération leucocytaire différentielle et peut également fournir de nombreuses informations diagnostiques. Par exemple, la présence d'érythrocytes présentant une morphologie altérée peut signaler une hémorragie chronique, une exposition à des toxines exogènes, une maladie affectant la vascularisation ou une réaction à médiation immunitaire primaire. Des changements dans la morphologie des leucocytes peuvent être le premier résultat obtenu en cas d'affections héréditaires ou de leucémie.

Certains résultats significatifs (ex : distribution atypique des cellules ou proportions relatives de certaines sous-classes cellulaires) ne peuvent être obtenus que grâce à l'examen cytologique d'un frottis sanguin. Dans certains cas, des organismes spécifiques, des inclusions cellulaires néoplasiques spécifiques sont observés sur les frottis sanguins et donnent un diagnostic immédiat et définitif. De plus, le suivi des modifications cytologiques observées dans le sang peut permettre de déterminer le traitement du patient, sa réponse à celui-ci et les pronostics à court terme et long terme.

L'objectif de cette mémoire est de savoir la base concernant les techniques hématologiques et leur interprétation et la description des techniques cytologiques de base chez le chien. Elle comprend aussi la comparaison entre le frottis sanguin et les autres paramètres de la numération formule sanguine.

D'un autre côté, il s'agira de :

- \* Déterminer les valeurs de paramètres érythrocytaires, leucocytaires et plaquettaires.
- \* Voir l'influence des facteurs de variations sur ces paramètres sanguins

# Chapitre 1

## **I. GENERALITES SUR LE SANG**

Le sang est un tissu conjonctif spécialisé constitué d'une substance intercellulaire fluide (le plasma) dans lequel baignent des éléments figurés. **(Jain, 1986)**

Les éléments figurés sont constitués par :

\* Les globules rouges (érythrocytes ou hématies) qui transportes l'oxygène des poumons aux tissus. **(Jain, 1986)**

\* Les globules blancs (leucocytes) qui jouent un rôle de défense en détruisant les organismes infectieux (bactéries, virus). Ils permettent aussi l'élimination des tissus morts ou lésés. **(Jain, 1986)**

\* les plaquettes (thrombocytes) qui constituent la première ligne de défense contre les hémorragies en adhérant aux brèches des vaisseaux sanguins et en participant au système de coagulation sanguine. **(Jain, 1986)**

\* Le plasma sanguin est une solution dans laquelle baignent les cellules sanguines. Il contient également des nutriments, des minéraux, des hormones, des anticorps, des déchets du métabolisme, etc **(Jain, 1986)**

- Avant de passer à savoir les éléments cellulaires sanguins normaux on doit d'abord savoir :

- La source du sang, l'organe hématopoïétique et la physiologie de synthèse du sang durant la vie de l'animal.

### **I-1-Organe hématopoïétique :**

Les cellules sanguines sont toutes issues de l'hématopoïèse. L'hématopoïèse est la production de l'ensemble des cellules sanguines circulantes et des cellules intervenant dans les processus de défense spécifique et non spécifique. Cette production est assurée durant toute la vie de l'individu. Il comprend un ensemble de phénomènes complexes de multiplication et de différenciation cellulaire qui conduisent une population de cellules souches pluripotentes, autorenouvelable et indéterminée, à se transformer en cellules déterminées dans le sens d'une lignée

cellulaire donnée puis en cellules fonctionnelles morphologiquement différenciées. (Moussa , 2009)

### **I-2 Localisation de l'hématopoïèse :**

L'hématopoïèse débute très tôt chez l'embryon dans la paroi de la vésicule vitelline (Hématopoïèse mésoblastique). Chez le fœtus, elle se déroule au niveau du foie et de la rate (Hématopoïèse hépatosplénique). Cette dernière cesse aux alentours de la naissance, à l'exception des rongeurs et du chat, chez qui elle persiste dans la rate. Après la naissance, l'hématopoïèse se déroule dans la moelle osseuse (Hématopoïèse médullaire). (Jain, 1986)

On distingue deux types de moelle osseuse :

La moelle osseuse rouge, hématopoïétique, richement vascularisée qui assure la production des cellules sanguines. Chez le fœtus et le nouveau-né, elle s'étend à la presque totalité des cavités osseuses. Elle régresse progressivement chez l'adulte au profit de la moelle osseuse adipeuse pour se localiser dans les os plats (côtes, vertèbres, sternum, bassin) et l'épiphyse des os longs. L'activité médullaire hématopoïétique persiste cependant durant toute la vie de l'individu. (Jain, 1986)

La moelle osseuse jaune, adipeuse constituée exclusivement d'adipocytes et non hématopoïétique. Elle remplace progressivement la moelle rouge au cours du développement de l'individu. Elle occupe chez l'adulte 50 à 75% des cavités médullaires osseuses. (Jain, 1986)

La distinction entre moelle jaune et moelle rouge n'est pas définitive. La moelle rouge hématopoïétique peut s'étendre, au dépend de la moelle jaune, dans certaines conditions qui nécessitent une production accrue de cellules sanguines (hémorragies répétées par exemple). L'inverse est également possible (aplasie médullaire par exemple). (Jain, 1986)

### **I-3 Schéma général de l'hématopoïèse :**

L'hématopoïèse se déroule selon un schéma caractérisé par deux compartiments :

### **I-3-1 Compartiment des cellules souches indifférenciées : C.F.U.**

Ces cellules sont non identifiables morphologiquement. Leur morphologie est comparable à celle d'un lymphocyte. Elles sont actuellement regroupées sous le nom générique de C.F.U. (Colony-Forming-Unit) c'est-à-dire unité (ou cellule) formant des colonies de multiplication. **(Ettinger et al,2017)**

Elles sont distinguées en deux groupes :

Les cellules souches indifférenciées pluripotentes (totipotentes) : C.F.U.-S (Colony-Forming-Unit in Spleen). Ces cellules sont indéterminées, capables de donner naissance à l'ensemble des lignées cellulaires sanguines. A l'état normal, 80 à 90% des C.F.U.-S sont en phase réversible de repos intermitotique. Elles représentent un stock de cellules souches utilisables à tout moment, selon les besoins de l'organisme. Les C.F.U.-S sont également capables d'autorenouvellement par division homoplasique (production de deux cellules filles identiques à la cellule d'origine) qui assure le maintien d'une population de cellules souches pluripotentes. **(Ettinger et al,2017)**

Les cellules souches indifférenciées déterminées : non identifiables morphologiquement mais déjà orientées de manière irréversible dans le sens d'une ou de plusieurs lignées sanguines déterminées. Les cellules déterminées sont en grande majorité engagées dans le cycle cellulaire et effectuent plusieurs divisions successives. Elles correspondent à la première étape de la différenciation des cellules sanguines mais également à une étape de multiplication de cellules précurseurs. **(Ettinger et al,2017)**

Les C.F.U. se distinguent très précocement en :

- \* C.F.U.-L (C.F.U. Lymphocytaire) : Cellule souche lymphoïde qui donnera naissance aux deux lignées lymphocytaires : les lymphocytes B et les lymphocytes T.
- \* C.F.U.-GEMM : cellule souche myéloïde à l'origine de l'ensemble des autres lignées sanguines (érythrocytes, granulocytes, monocytes, mégacaryocytes).

Cette cellule souche, déjà déterminée mais encore multipotente, se différencie à son tour, par multiplication, en cellules souches d'une seule lignée sanguine :

C.F.U.-E (C.F.U. Erythroblastique) : cellule souche de la lignée érythrocytaire

C.F.U.-GM (C.F.U. granulocytaire-monocytaire) : cellule souche commune aux granulocytes neutrophiles et aux monocytes. **(Ettinger et al ,2017)**

C.F.U.-Eo (C.F.U. Eosinophilique) : cellule souche des granulocytes éosinophiles. **(Ettinger et al, 2017)**

C.F.U.-Bas (C.F.U. Basophilique) : cellule souche des granulocytes basophiles et des mastocytes. **(Ettinger et al, 2017)**

C.F.U.-Meg (C.F.U. mégacaryocytaire) : cellule souche de la lignée thrombocytaire chez les mammifères. **(Ettinger et al,2017)**

### **I-3-2 Compartiment des cellules en voie de maturation**

Chaque cellule souche, déterminée après un nombre inconnu de multiplication, donne naissance à une cellule morphologiquement identifiable qui correspond à la cellule souche différenciée d'une lignée sanguine.

Les cellules différenciées subissent par multiplication et différenciation un ensemble de transformations morphologiques qui aboutit à l'apparition d'une population de cellules morphologiquement différenciées et spécialisées en vue d'une fonction déterminée. Il s'agit d'un phénomène irréversible et unidirectionnel de maturation.

L'ensemble des cellules morphologiquement définies, qui dérivent les unes des autres pour aboutir à la forme cellulaire définitive et mature constitue une lignée cellulaire sanguine. ( **Moussa ,2009**)

## **I-4 Erythropoïèse :**

### **I-4-1 Phase de multiplication**

Elle dure cinq à six jours et se caractérise par cinq stades successifs morphologiquement définis, séparés par quatre divisions cellulaires successives :

Le proérythroblaste

L'érythroblaste basophile I

L'érythroblaste polychromatophile I

L'érythroblaste polychromatophile II

L'érythroblaste acidophile

L'érythropoïèse est caractérisée morphologiquement par une réduction de la taille de la cellule et du rapport nucléo-cytoplasmique, une condensation de la chromatine nucléaire et une acidophilie progressive du cytoplasme consécutive à la synthèse de l'hémoglobine.

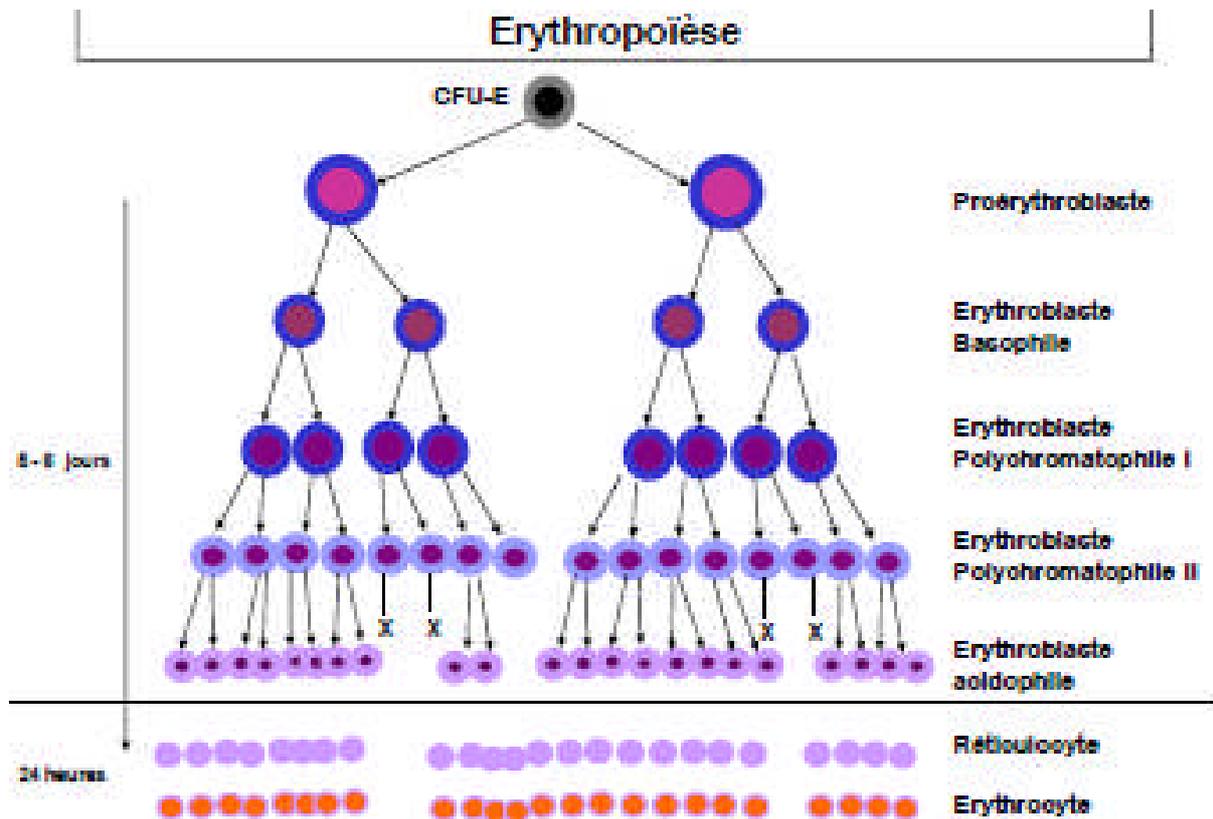
Les cellules en multiplication sont regroupées en îlots érythroblastiques, centrés le plus souvent sur un macrophage. (Moussa, 2009)

#### **I-4-2 Phase de maturation**

Elle dure environ trois jours. L'érythroblaste acidophile ne se divise plus. Il expulse les reliquats condensés du noyau et se transforme en réticulocyte.

Le réticulocyte est un érythrocyte jeune, caractérisé par la persistance de protéines granulo-filamenteuses mises en évidence par la coloration au Bleu de Crésyl Brillant (BCB). Sa taille est légèrement supérieure à celle de l'érythrocyte. Le réticulocyte quitte la moelle par diabase après 24 ou 36 heures et circule environ 48 heures dans le sang avant de se transformer en érythrocyte mur. Il existe environ 0,5 à 1 réticulocyte pour 1000 érythrocytes.

Granulopoïèse et la monocytopoïèse. ( Moussa , 2009)



**Figure1 : Schéma de l'érythropoïèse.**

### I-5 Cellules souches

L'ensemble des trois lignées de granulocytes et la lignée des monocytes-macrophage dérivent d'une cellule souche pluripotente à l'origine également des lignées érythrocytaire et mégacaryocytaire : la C.F.U.-GEMM. (Jain, 1986)

La C.F.U.-GEMM donne, par multiplication, naissance aux cellules souches de chaque lignée sanguine. Celles-ci ne sont pas encore identifiables morphologiquement mais sont déjà définitivement déterminées dans le sens d'une lignée sanguine donnée. (Jain, 1986)

La C.F.U.-E, la C.F.U.-Bas, la C.F.U.-Meg et la C.F.U.-Eo se différencient précocement. Les lignées granulocytaire neutrophile et monocyttaire s'individualisent l'une de l'autre plus tardivement avec l'existence d'une cellule commune à double potentialité : la C.F.U.-GM. Cette cellule semble également être à l'origine des cellules présentatrices d'antigène localisées dans le thymus, la peau et les organes lymphoïdes secondaires. (Jain, 1986)

Lorsque les cellules souches de chaque lignée deviennent morphologiquement identifiables, elles sont déjà définitivement orientées dans le sens d'une lignée sanguine déterminée. Les méthodes d'identification courantes (frottis de moelle osseuse coloré par une méthode de routine) ne permettent pas cependant d'identifier avec certitude les myéloblastes précurseurs de chaque lignée granulocytaire et le monoblaste précurseur de la lignée monocyttaire. La distinction entre les promyélocytes des trois lignées granulocytaires est également difficile bien que, dès ce stade, des granulations spécifiques peuvent être identifiées dans la lignée des éosinophiles et des basophiles. **(Jain, 1986)**

## **I-6 Lignée granulocytaire neutrophile**

### **I-6-1 Phase de multiplication :**

Elle dure cinq à sept jours et comprend quatre stades morphologiques distincts :

-Le myéloblaste : cellule souche différenciée présentant une morphologie identique dans les lignées monocyttaire et granulocytaire neutrophile. . **(Jain, 1986)**

-Le promyélocyte caractérisé par l'apparition de granulations très nombreuses et volumineuses : les granulations azurophiles. L'aspect morphologique est proche dans les trois lignées granulocytaires. . **(Jain, 1986)**

-Le myélocyte : on note l'apparition de granulations neutrophiles spécifiques et individualisation morphologique définitive de la lignée neutrophile. **(Jain, 1986)**

-Le métamyélocyte avec un arrêt des divisions.**(Jain, 1986)**

Au stade myélocyte, les granulations primaires sont moins nombreuses car elles se répartissent entre les cellules filles alors que leur synthèse a cessé. Leur affinité tinctoriale change et elles deviennent neutrophiles en microscopie photonique. A ce stade apparaissent également des granulations secondaires peroxydase (-) synthétisées également à partir de l'appareil de golgi. Elles sont également neutrophiles au microscope photonique. **(Jain, 1986)**

Au stade métamyélocyte, le nombre des organites intracytoplasmiques diminue à l'exception des granulations. Parallèlement, la cellule accumule du glycogène. **(Jain, 1986)**

La granulopoïèse neutrophile est caractérisée par :

Une réduction de la taille de la cellule ;

Une réduction de la taille du noyau ;

Une condensation de la chromatine et la forme progressivement incurvée puis polylobée du noyau ;

L'apparition de granulations d'abord azurophiles puis neutrophiles ;

L'arrêt définitif des divisions cellulaires. **(Harvey, 2011)**

#### **I-6-2 Phase de maturation :**

Elle dure également de cinq à sept jours. Le métamyélocyte ne se divise plus. Il donne naissance, par maturation, au granulocyte neutrophile jeune non segmenté au noyau fortement incurvé mais non encore polylobé. Celui-ci représente une réserve médullaire importante, cinq à sept fois supérieure au nombre de cellules circulantes. Leur maturation dans la moelle puis dans le sang s'accompagne de la segmentation du noyau. **(Harvey, 2011)**

#### **I-7 Lignée granulocytaire neutrophile**

Elle comprend également un compartiment de multiplication et un comportement de maturation. Le compartiment de multiplication comporte les mêmes étapes cytologiques que celui de la lignée neutrophile. Il dure cinq à six jours.

Le myéloblaste éosinophile est difficilement discernable du myéloblaste neutrophile. Ses granulations sont cependant plus volumineuses et plus nombreuses. L'apparition et la maturation des granulations spécifiques s'effectuent au stade promyélocyte. Celui-ci contient de nombreuses granulations azurophiles, éosinophiles et basophiles (stade de maturation intermédiaire et transitoire). Les granulations sont toutes éosinophiles au stade myélocyte avec, au microscope

électronique, présence de l'inclusion cristalline centrale caractéristique responsable de leur acidophilie. ( **Harvey, 2011**)

### **I-8 Lignée granulocytaire basophile**

Elle est moins bien connue en raison du faible nombre de cellules de la lignée présent dans la moelle osseuse. Le myéloblaste basophile n'est pas identifiable morphologiquement. Les granulations basophiles métachromatiques apparaissent au stade promyélocyte à côté des granulations azurophiles non spécifiques. Elles semblent provenir d'une maturation de celles-ci. Au stade myélocyte, seules les granulations métachromatiques sont présentes. La durée du phénomène demeure très mal connue. (**Harvey ,2011**)

Les polynucléaires basophiles et les mastocytes du tissu conjonctif sont certainement issu d'une cellule souche commune hématopoïétique. Le stade auquel s'individualise ces deux lignées n'est pas connu. (**Harvey , 2011**)

On pense cependant que les mastocytes quittent la moelle osseuse au stade de cellules souches indifférenciées et subissent leur maturation morphologique et fonctionnelle dans le tissu conjonctif des organes périphériques. A l'inverse, les polynucléaires basophiles assurent une maturation complète dans la moelle osseuse avant de gagner le torrent circulatoire puis les espaces conjonctifs.

( **Harvey , 2011**)

### **I-9 Lignée monocyttaire**

Le monoblaste, cellule souche de la lignée, est morphologiquement identique au myéloblaste de la lignée granulocytaire neutrophile. On reconnaît une étape intermédiaire : le promonocyte qui présente deux divisions successives. Le monocyte qui en est issu gagne directement le sang. Il donne naissance, dans les tissus, aux différentes catégories de macrophages. La monocyttopoïèse dure quatre à cinq jours. ( **Lewandrowski et al,2015**)

### **I-10 Lignée mégacaryocytaire**

La thrombocytopoïèse est la production médullaire de thrombocytes ou de plaquettes sanguines à partir d'une cellule souche polyploïde : le mégacaryocyte. Elle dure environ cinq jours. Chez les mammifères, le mégacaryocyte se forme par

endomitose (divisions nucléaires sans division cytoplasmique) donnant naissance à une cellule géante polyploïde de 32 à 64 N. (**Lewandrowski et al,2015**)

Quatre stades morphologiques peuvent être identifiés :

Le mégacaryoblaste : cellule souche euploïde capable d'endomitose ;

Le mégacaryocyte : cellule polyploïdes dans lesquelles s'élaborent des granulations spécifiques ;

Le mégacaryocyte granuleux : riche en granulations ;

Le mégacaryocyte thrombocytogène : cellule qui libère les plaquettes par fragmentation de ses prolongements cytoplasmiques.(**Lewandrowski et al,2015**)

L'origine cytologique des thrombocytes des oiseaux et des vertébrés inférieurs est actuellement très mal connue. Au microscope électronique, les stades granuleux puis thrombocytogène sont caractérisés par la synthèse de différents éléments de structure des futures plaquettes.(**Lewandrowski et al,2015**)

Granulations claires et denses élaborées par l'appareil de Golgi ;

Mitochondries nombreuses et de petite taille ;

Grains de glycogène agglomérés en amas ;

Membrane de démarcation : ce sont des éléments membranaires élaboré très activement et qui correspondent aux futures membranes des plaquettes. Leur origine est controversée. Elles se forment soit par invagination de la membrane cytoplasmique, soit à partir du réticulum endoplasmique. Les deux possibilités n'étant pas incompatibles. (**Lewandrowski et al, 2015**)

Les prolongements cytoplasmiques déversent directement les plaquettes dans la lumière des capillaires de la moelle osseuse. Un mégacaryocyte thrombocytogène produit entre 4000 et 8000 plaquettes. (**Lewandrowski et al,2015**)

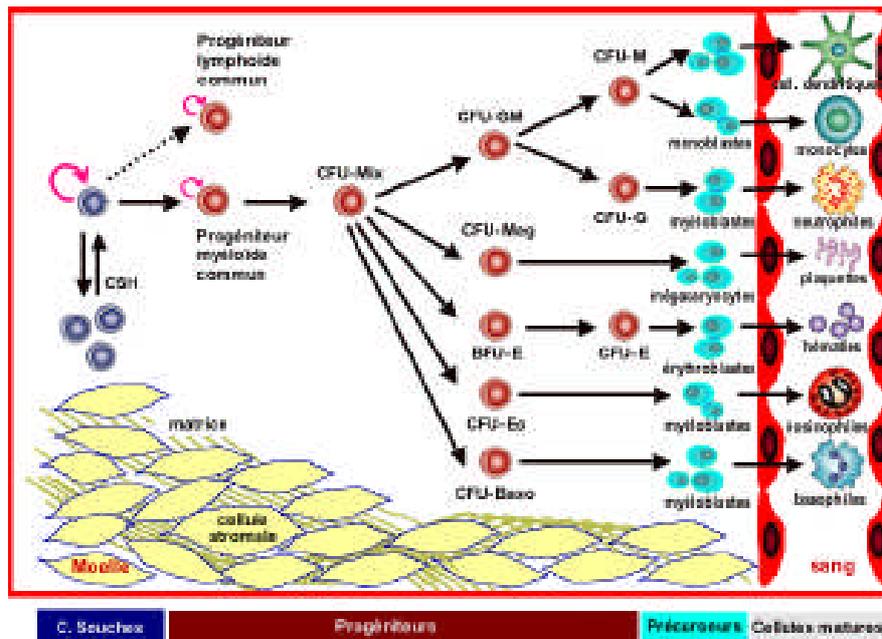


Figure 2 : Schéma de la différenciation des cellules myéloïdes.

## I-11 Lymphocytopoïèse

La lymphocytopoïèse correspond à la production de lymphocytes par les tissus hématolymphopoïétiques et les organes lymphoïdes secondaires. La production des lymphocytes et l'apparition des cellules différenciées sur le plan fonctionnel passent par plusieurs étapes au cours desquelles interviennent :

La moelle osseuse qui produit les lymphocytes immatures. ( **Lewandrowski et al,2015**)

Les organes lymphoïdes primaires ou centraux dans lesquels s'effectue la différenciation fonctionnelle en lymphocytes B et T. ( **Lewandrowski et al,2015**)

Les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques dans lesquels les lymphocytes subissent différentes transformations sous l'effet des stimulations antigéniques. ( **Lewandrowski et al,2015**)

La cellule souche des lignées lymphocytaires, la C.F.U.-L, s'individualise très tôt de la C.F.U.-GEMM, cellule souche des autres lignées sanguines. A partir de la cellule souche lymphocytaire commune, les précurseurs des lymphocytes B et des lymphocytes T s'individualisent également précocement. Les deux lignées ainsi obtenues évoluent de façon indépendante. ( **Lewandrowski et al,2015**)

On admet actuellement qu'il n'est pas possible de distinguer morphologiquement, dans la moelle osseuse, les lymphocytes et leurs précurseurs (lymphoblastes) des cellules souches non différenciées. (Lewandrowski et al, 2015)

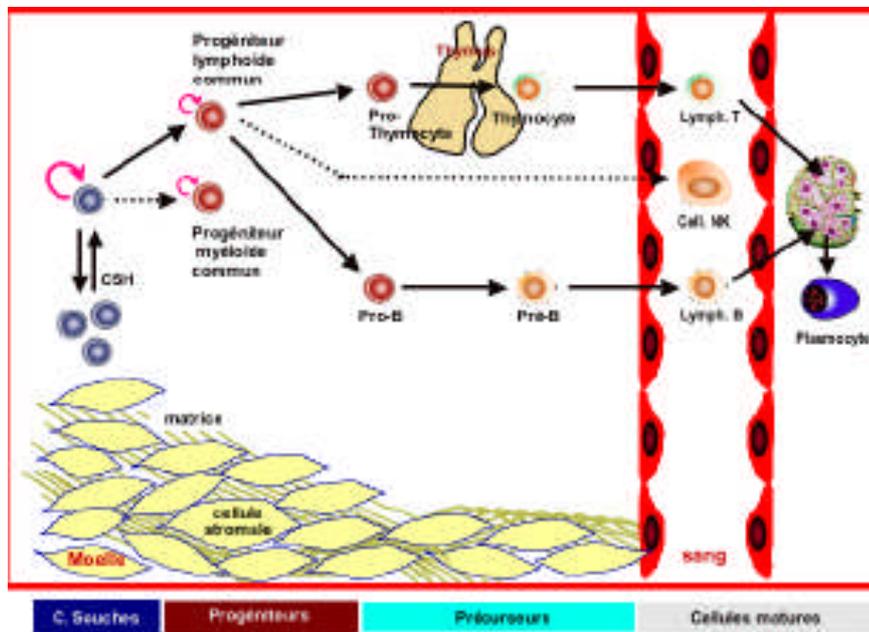


Figure3 : Schéma de la différenciation des cellules lymphoïdes.

## I-12 Régulation de l'hématopoïèse

La régulation de l'hématopoïèse est un processus complexe et très précis. Elle est assurée par un ensemble de facteurs solubles d'origine cellulaire (les cytokines) qui permettent une production médullaire quantitativement et qualitativement équilibrée et capable de s'adapter aux besoins de l'organisme. (Harvey , 2011)

Les cytokines sont des facteurs protéiques ou glycoprotéiques solubles sécrétées par de nombreuses catégories de cellules et qui permettent la communication entre les cellules. Elles jouent un rôle de messenger entre différentes populations cellulaires. Elles représentent de véritables hormones à action locale ou générale qui interviennent dans la régulation de la plupart des phénomènes biologiques tels que la croissance, la multiplication et la différenciation cellulaire, les réactions immunitaires, l'inflammation. (Harvey , 2011)

## I-13 Classification des cytokines hématopoïétique

Les cytokines intervenant dans la régulation de l'hématopoïèse appartiennent à plusieurs groupes de facteurs. **(Harvey, 2011)**

On distingue : -certaines interleukines (IL) :

-les CFS (Colony-Stimulating-factors), cytokines caractérisées initialement par leur pouvoir de multiplication sur les cellules souches en culture et leur capacité à provoquer la formation de colonies in vitro. Les CSF interviennent essentiellement sur les lignées granulocytaires et monocytaires et sont pour cette raison, encore désignés sous le nom de facteurs de croissance granulocyto-monocytaires. **(Harvey, 2011)**

- Les protéines, cytokines connues par leur action stimulante sur la production des cellules sanguines in vivo. **(Harvey, 2011)**

Mode d'action des cytokines hématopoïétiques

On distingue des cytokines à actions multiples et des cytokines à action spécifiques. **(Harvey, 2011)**

Cytokines à actions multiples : Elles correspondent à des facteurs agissant sur les cellules les plus immatures, et qui seuls ou en association favorisent la multiplication et la différenciation des précurseurs de plusieurs lignées sanguines. Ce premier groupe comprend deux facteurs de structure chimique différente et agissant sur des récepteurs cellulaires différents mais dont les propriétés se recouvrent presque totalement. Il s'agit de l'interleukine 3 (IL3) et du GM-CSF (Granulocytic-Monocytic-Colony Stimulating Factor). **(Harvey, 2011)**

Ils favorisent la différenciation des C.F.U.-GEMM vers une lignée sanguine déterminée. **(Harvey, 2011)**

Ils agissent sur la différenciation des C.F.U.-GM dans le sens myéloblaste ou monoblaste. **(Harvey, 2011)**

Ils interviennent dans la différenciation de la lignée mégacaryocytaire.

**(Harvey, 2011)**

Ils potentialisent l'action de l'érythropoïétine sur la lignée érythrocytaire ;

L'IL3, en association avec d'autres interleukines (IL6), intervient sur la différenciation des C.F.U.-S en permettant notamment leur entrée dans le cycle mitotique. **(Harvey, 2011)**

Le GM-CSF intervient également en dehors de la moelle osseuse sur la multiplication et la différenciation fonctionnelle des cellules interdigitées.

**(Harvey, 2011)**

Une cytokine différente des deux premières, le SCF (Stem Cell Factor), agit en favorisant l'autorenouveaulement par multiplication des cellules souches pluripotentes (C.F.U.-S). **(Harvey, 2011)**

Cytokines à actions spécifiques : Elles comprennent les facteurs agissant sur une seule lignée cellulaire sanguine. On distingue :

#### **I-14 Régulation de l'érythropoïèse :**

L'érythropoïétine est le principal facteur régulateur de l'érythropoïèse. C'est le facteur de croissance spécifique de la multiplication et de la différenciation des cellules de la lignée érythrocytaire. En présence d'IL3 et de GM-CSF, elle oriente la différenciation des cellules souches déterminées de la lignée érythrocytaire, les C.F.U.-E. Elle agit sur l'évolution de la cellule souche déterminée (C.F.U.-E) en proérythroblaste. Elle favorise la multiplication des érythroblastes et la synthèse de l'hémoglobine. Elle agit sans doute également sur la libération des réticulocytes dans le sang.. **(Lewandrowski et al, 2015)**

#### **I-15 Régulation de la granulopoïèse et de la monocytopoïèse :**

Plusieurs cytokines distinctes agissent sur la différenciation des lignées sanguines granulocytaires et monocytaires. **(Lewandrowski et al,2015)**

Le G-CSF( Granulocytic-ColonyStimulating Factor) favorise la différenciation de la lignée granulocytaire neutrophile.

**(Lewandrowski et al, 2015)**

Il permet également la maturation médullaire des neutrophiles et leur libération. Il stimule l'action des neutrophiles murs dans le tissu conjonctif.

**(Lewandrowski et al, 2015)**

- Le M-CSF (Monocytic-ColonyStimulating Factor) agit spécifiquement sur la lignée monocyttaire et le renouvellement des macrophages tissulaires ; **(Lewandrowski et al, 2015)**

- L'interleukine 5 (IL5) stimule spécifiquement la lignée granulocytaire éosinophile. Elle favorise aussi la prolifération des lymphocytes B. **(Lewandrowski et al, 2015)**

- L'IL3 intervient également sur la différenciation des polynucléaires basophiles et les mastocytes. **(Lewandrowski et al,2015)**

#### **I-16 Régulation de la thrombocytopoïèse :**

Spécifique à la lignée thrombocytaire, la thrombopoïétine a été purifiée et son gène codé. Elle agit en favorisant la différenciation des mégacaryocytes et surtout la production de plaquettes par les mégacaryocytes mûrs.

**(Lewandrowski et al, 2015)**

#### **I-17 Régulation de la lymphocytopoïèse :**

La lignée lymphocytaire s'isole très précocement des autres lignées sanguines et est soumise à l'action régulatrice des cytokines spécifiques appartenant à la famille des interleukines. Celles-ci agissent aux différents stades médullaire et extramédullaire de la différenciation des cellules lymphocytaires.

**(Lewandrowski et al,2015)**

On note :

L'IL7 sécrétée par les cellules du stroma médullaire (cellules réticulaires) favorise la multiplication et la différenciation des précurseurs B et T ;

L'IL4 sécrétée par les lymphocytes T activés a une action plus spécifique sur la lignée lymphocytaire B. **(Lewandrowski et al, 2015)**

L'IL2 sécrétée également par les lymphocytes T activés induit principalement la prolifération de la population lymphocytaire T. **(Lewandrowski et al, 2015)**

## **I-18 Les éléments cellulaires sanguins normaux :**

### **I-18-1 Erythrocytes :**

On évalue principalement la morphologie des érythrocytes en étudiant la monocouche car c'est dans cette zone que les cellules sont le moins déformées par la préparation. De plus, les différences d'épaisseur au sein du frottis risquent moins d'influencer l'aspect des cellules. Presque toutes les anomalies morphologiques significatives des érythrocytes peuvent être détectées au grossissement 50, bien que certaines altérations aient parfois besoin d'un autre examen à plus fort grossissement. En examinant directement la morphologie érythrocytaire avec un objectif 100, on augmente souvent le risque de faire des erreurs d'interprétation. **(Jain, 1986)**

Les érythrocytes normaux de chien font 7µm de diamètre). Dans la monocouche des frottis sanguin, les érythrocytes sont biconcaves avec une zone centrale plus pâle qui occupe environ un tiers du diamètre de la cellule. Elles présentent une légère anisocytose et on peut parfois observer une cellule polychromatophile immature dans la circulation générale. **(Jain, 1986)**

### **I-18-2 Leucocytes :**

#### **I-18-2-1 Neutrophiles :**

Le noyau du neutrophile est allongé et séparé en multiples lobules par des invaginations du contour nucléaire. Les démarcations entre les lobules ne sont pas suffisamment discernables pour être considérées comme filamenteuses. La chromatine est organisée en amas denses d'hétérochromatine foncée ou noire qui sont séparés par des zones étroites d'euchromatine condensée. **(Jain, 1986)**

Le cytoplasme est transparent, légèrement éosinophile à légèrement basophile, avec une texture finement granuleuse. Dans de rares cas, on y observe 1 ou 2 petites vacuoles. Les granulations des neutrophiles peuvent être invisibles ou légèrement éosinophiles, mais sont plus pâles et beaucoup plus petites que les granulations apparentes des éosinophiles matures. **(Jain, 1986)**

### **I-18-2-2 Neutrophiles non segmentés :**

Les neutrophiles non segmentés, qui sont peu nombreux dans le sang du chien en bonne santé, ont une forme allongée, avec un noyau en U ou en J, ou légèrement torsadée avec une chromatine moins condensée que dans les neutrophiles matures. La lobulation nucléaire est inexistante ou alors mal définie. Chez le chien, les étranglements des neutrophiles non segmentés font moins de la moitié de la largeur du reste du noyau. (Jain , 1986)

### **I-18-2-3 Monocytes :**

Les monocytes chez le chien sont plus large que les neutrophiles et ont la même taille que les éosinophiles et les basophiles. La morphologie des noyaux est très variable et peut être en forme de U comme ceux des neutrophiles non segmenté ou avoir des formes multi lobulées irrégulières. ( Jain , 1986)

La chromatine nucléaire des monocytes est généralement différente des celle des granulocytes matures et immatures .Elle est dentelée ou épaisse, avec juste quelques amas d'hétérochromatine. ( Jain , 1986)

Les monocytes contiennent une quantité modérée ou abondante de cytoplasme gris bleu avec une texture de verre dépoli, qui comprend souvent des granulations éosinophiles éparses et parfois des vacuoles. Les bordures cytoplasmiques sont généralement irrégulières, avec parfois de fines extensions filamenteuses ressemblants à des pseudopodes. En raison de leur taille relativement large, les monocytes peuvent être concentrer le long de l'extrémité en fuseau et leur proportion est sous-estimée dans la numération leucocytaires différentielles des frottis sanguins. (Jain , 1986)

### **I-18-2-4 Lymphocytes :**

Les lymphocytes sont de taille variable dans le sang du chien avec une prédominance des petites cellules. Les petites lymphocytes contiennent des noyaux

ronds ou ovales, très colorés, qui sont parfois dentelés et qui possèdent généralement de gros amas de chromatine bien définis. (**Jain, 1986**)

La chromatine nucléaire peut également être dense, en particulier lorsqu'elle est colorée avec une coloration rapide. Les petits lymphocytes contiennent peu de cytoplasme. Celui-ci est bleu et ses bordures sont partiellement cachées par les noyaux en particulier dans les lymphocytes félines. Certains lymphocytes de taille plus importante moins intensément colorée mais toujours aussi clairement mottée. Le cytoplasme des plus grosses cellules est plus abondant et peut être légèrement à modérément basophile. Certains lymphocytes contiennent quelques granulations cytoplasmiques éosinophiles de taille variable qui se concentrent généralement seulement autour du noyau de la cellule. (**Jain, 1986**)

#### **I-18-2-5 Eosinophiles :**

Les éosinophiles, qui sont légèrement plus larges que les neutrophiles, sont généralement très peu nombreux sur le frottis sanguins du chien en bonne santé. Les noyaux sont moins lobulés. Ils sont souvent divisés en deux lobes distincts, avec moins de chromatine condensée que les neutrophiles matures. (**Jain, 1986**)

Le cytoplasme est transparent à légèrement basophile et contient des granulations roses, qui sont nombreuses, uniformes. Les éosinophiles canins contiennent parfois une seule grosse granulation qui peut être confondue avec un corps d'inclusion ou un organisme inhabituel. Les éosinophiles des Greyhounds sont particuliers car ils peuvent se dégranuler durant la coloration et apparaître vacuolisés sur les frottis. Les granulations éosinophiles qui se sont rompues in vitro sont parfois librement dispersées à l'arrière-plan des frottis sanguins canins.

(**Jain, 1986**)

#### **I-18-2-6 Basophiles:**

Les basophiles, qui sont le plus gros type de cellules granulocytaires matures, sont rares dans le sang du chien en bonne santé. Les noyaux sont colorés

de façon moins intense, présentent moins de lobulations et ont un aspect plus allongé (en forme de ruban) que les noyaux des autres granulocytes. Le cytoplasme est modérément bleu gris à légèrement violet et contient généralement quelque granulations.( **Jain , 1986**)

Chez le chien, les granulations des basophiles sont généralement peu nombreuses et se colorent en bleu foncée ou sont métachromatiques. Ils ne présentent généralement pas de granulations visibles mais sont reconnaissables de par leur taille, leur morphologie nucléaire et leur coloration cytoplasmique.( **Jain ,1986**)

### **I-19 Plaquettes :**

Chez le chien, les plaquettes sont ovales, rondes ou en forme de bâtonnet sur les frottis sanguins. Leur cytoplasme transparent ou clair contient généralement un amas central de granulations éosinophiles ou métachromatiques. Les plaquettes sont normalement de tailles variables.( **Jain , 1986**)

Elles font à peu près un quart à deux tiers de diamètre des érythrocytes chez le chien. En raison de leur fins processus cytoplasmiques qui s'étendent de leur petit corps cellulaire sphériques, les plaquettes partiellement activées ressemblent à des araignées. Les plaquettes peuvent également s'agglutiner en une masse amorphe sur les frottis sanguins. Les plaquettes agglutinées sont généralement poussées jusqu'à l'extrémité en biseau, ce qui peut donner une fausse impression de thrombocytopenie si on évalue seulement la monocouche du frottis.( **Jain , 1986**)

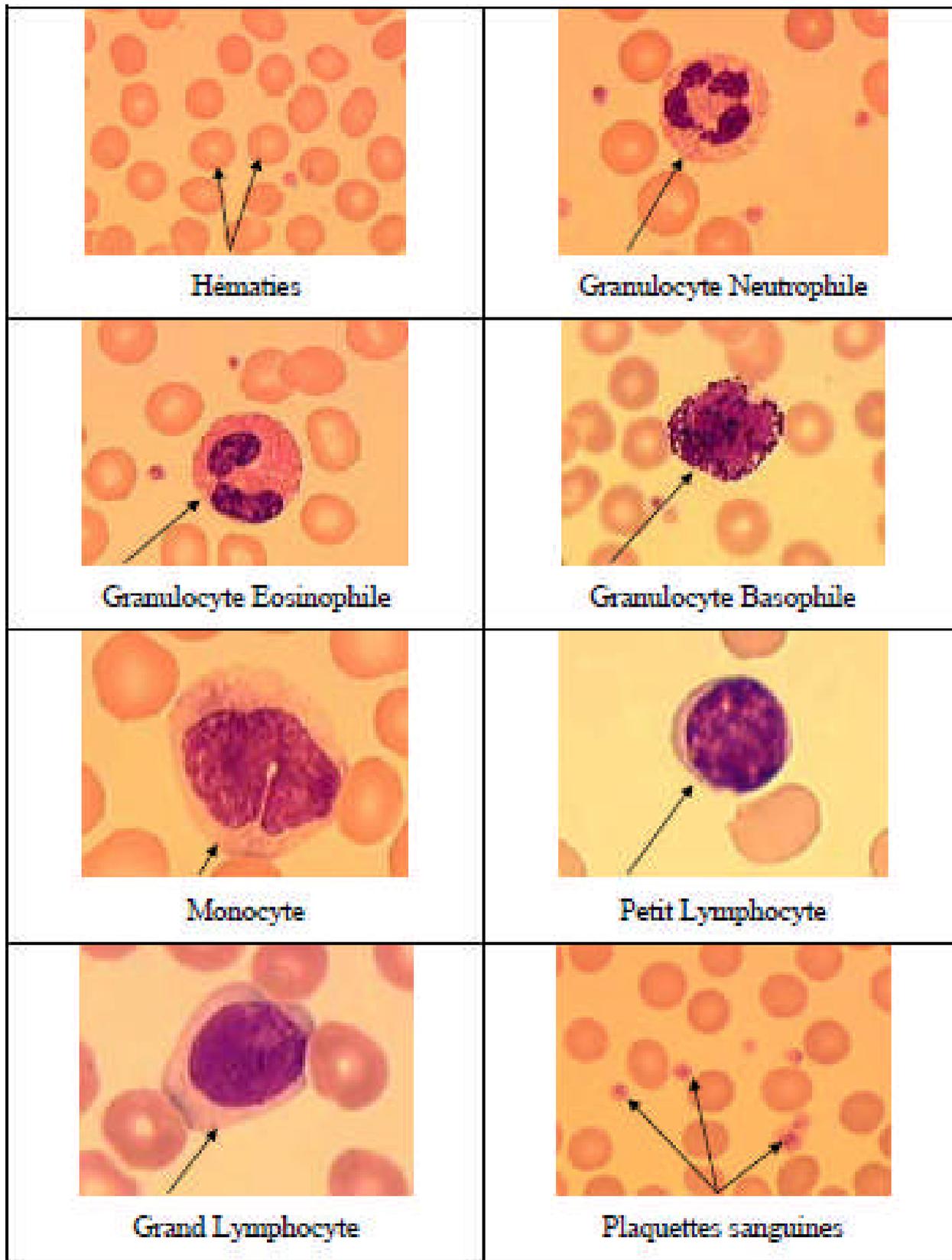


Figure4 : Morphologie des cellules sanguines.

## **I-20 Valeurs usuelles**

### **I-20-1 Valeurs usuelles des hématies :**

Les valeurs usuelles des érythrocytes sont des intervalles, pour une numération ou un index donné, qui sont observés dans une population saine. On distingue deux types d'index érythrocytaires. **(Williard et al, 1989)**

Les index érythrocytaires mesurés : Il s'agit de l'hématocrite (Ht), la numération globulaire (NG), le taux d'hémoglobine (Hb) et le nombre de réticulocytes.

Les index érythrocytaires calculés : **(Williard et al, 1989)**

On distingue le volume globulaire moyen (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

Ces paramètres sont calculés à l'aide des formules suivantes :

**(Williard et al, 1989)**

$$\text{VGM} = (\text{Ht} \times 10) / \text{NG}$$

$$\text{CCMH} = (\text{Hb} \times 100) / \text{HT}$$

Les valeurs usuelles des hématies de chien sont consignées dans le tableau suivant :

	Valeurs extrêmes	Unité
HT	38-57	%
NG	5,6-8,5	10 <sup>12</sup> /L
HP	13,2-19,3	g/dl
Réticulocytes	20-80	10 <sup>9</sup> /L
VGM	62-71	fI
CCMH	32-36	g/dl

**Tableau 1 : Valeurs usuelles des érythrocytes de chien**

**I-20-2 Valeurs usuelles des leucocytes circulants :**

Les valeurs normales du leucogramme du chien en bonne santé sont données par de nombreux auteurs. Le tableau suivant donne les valeurs usuelles chez le chien adulte (âgé de un à huit ans) d'après Jain et celles données par Crespeau et Sodikoff. Les moyennes et les valeurs extrêmes sont exprimées en unité

Internationale (10<sup>9</sup>cellules /L de sang). (Williard et al, 1989)

	Valeurs moyennes (10 <sup>9</sup> /L)	Valeurs extrêmes (10 <sup>9</sup> /L)	Pourcentages
<b>Leucocytes</b>  <b>Jain N.C., 1986</b> Crespeau F., 1981 Sodikoff C.H. 1995	<b>11,5</b> 11,54	<b>6-17</b> 5-18 6-15	
<b>Granulocytes neutrophiles</b>  <b>Jain N.C., 1986</b> Crespeau F., 1981 Sodikoff C.H., 1995	<b>7,5</b> 7,8	<b>3-11,8</b> 2,5-12,5 3-11,5	<b>60 à 80%</b> 40 à 80%
<b>Granulocytes éosinophiles</b>  <b>Jain N.C., 1986</b> Crespeau F., 1981 Sodikoff C.H., 1995	<b>0,6</b> 0,64	<b>0,1-1,3</b> 0-3 0,1-1	<b>2 à 10%</b> 0 à 20%
<b>Granulocytes basophiles</b>  <b>Jain N.C., 1986</b> Crespeau F., 1981 Sodikoff C.H., 1995	<b>Rares</b> 0,05	<b>Rares</b> 0-0,3 0-0,1	<b>Rares</b> 0 à 2%
<b>Lymphocytes</b>  <b>Jain N.C., 1986</b> Crespeau F., 1981 Sodikoff C.H., 1995	<b>2,8</b> 2,49	<b>1-4,8</b> 0,5-4,8 1,5-5	<b>12 à 30%</b> 10 à 34%
<b>Monocytes</b>  <b>Jain N.C., 1986</b> Crespeau F., 1981 Sodikoff C.H., 1995	<b>0,7</b> 0,6	<b>0,1-1,3</b> 0-1,6 0-2	<sup>2</sup> <b>10%</b>  0 à 13%

**Tableau 2 : Valeurs usuelles du leucogramme de chien adulte**

# Chapitre II

## **II. PATHOLOGIES DU SANG**

### **II-1 Anomalies qualitatives du frottis sanguin :**

#### **II-1-1 Altération de la morphologie des érythrocytes :**

Les altérations de la morphologie des érythrocytes qui sont cliniquement significatives et régulièrement détectées en routine dans le sang du chien peuvent être groupées en 5 catégories principales : **(Ettinger et al ,2017)**

- 1- Fragmentation des érythrocytes
- 2- Lésions oxydatives
- 3- Déformation de la forme cellulaire ou poikilocytose
- 4- Lésions à médiation immune
- 5- Taille cellulaire anormale

#### **II-1-2 Fragmentation :**

La fragmentation des érythrocytes est suggérée par la présence d'érythrocytes qui ont perdu une partie de leur membrane cellulairesur les frottis sanguins –avec ou sans cytoplasme associé. La fragmentation des érythrocytes est le plus souvent occasionnée par une turbulence sanguine excessive en raison de troubles de flux sanguin(anémie hémolytique macroangiopathique) ou d'un important dépôt de fibrine au sein de la lumière des petits vaisseaux (anémie hémolytique microangiopathique).. **(Ettinger et al ,2017)**

Le premier mécanisme est probablement la principale cause de fragmentation des érythrocytes lors de sténose valvulaire cardiaque et de syndrome cave supérieur en cas de dirofilariose. Le deuxième mécanisme est responsable de l'hémolyse par fragmentation qui est fréquemment observée chez les animaux présentant une coagulation intravasculaire disséminée ou une inflammation considérable des tissus très vascularisés (rate, foie, parenchyme pulmonaire et cortex rénale).. **(Ettinger et al ,2017)**

Les deux mécanismes peuvent être actifs en cas d'hémolyse par fragmentation associée à de grosses tumeurs très vascularisées (particulièrement les hémangiosarcomes) la fragmentation des érythrocytes peut également être occasionnée par des anomalies intrinsèques aux hématies, comme chez les animaux présentant des lésions oxydatives ou des carences en fer graves ou modérées. Sur les frottis sanguins, les érythrocytes fragmentés se présentent généralement sous 1 à 3 formes morphologiques : schizocystes, kératecytes et précurseurs de kératecyte. **(Ettinger et al ,2017)**

Les schizocystes sont des fragments d'érythrocytes de forme irrégulière qui présentent typiquement des bordures découpées asymétriques et des projections pointues et aiguës. **(Ettinger et al ,2017)**

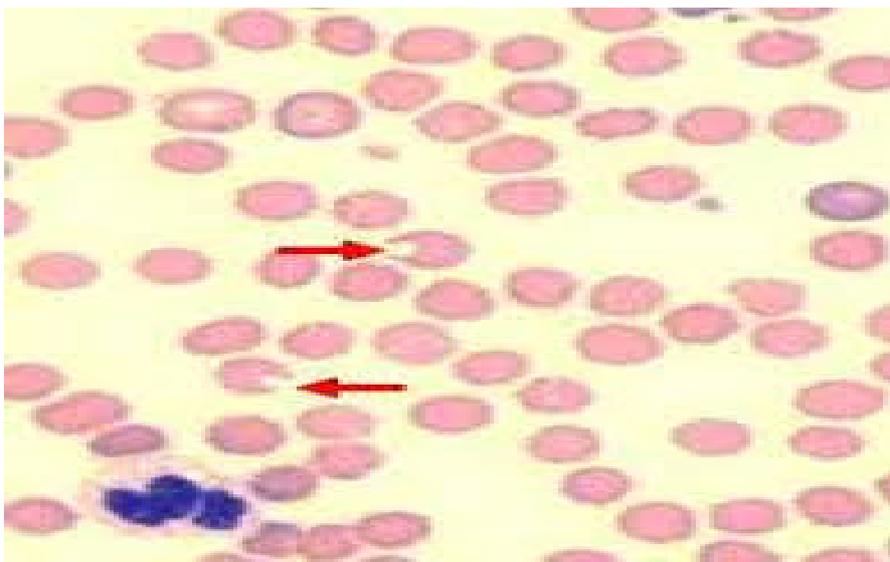
Les kératecytes sont des fragments érythrocytaires avec deux projections adjacentes en forme de cornes en raison de la perte de la membrane cellulaire et du cytoplasme sur un même côté. Les kératecytes ont une forme bidimensionnelle sur les frottis sanguins. **(Ettinger et al ,2017)**

Les précurseurs de kératecytes sont des érythrocytes contenant une seule structure excentrée ressemblant à une vacuole. Celle-ci se formerait lorsque la cellule rencontre des filaments de fibrines formant un pont dans la lumière d'un vaisseau. Ces cellules sont généralement associées à d'autres formes d'érythrocytes fragmentés et représentent probablement la forme transitionnelle entre les érythrocytes intacts et les kératecytes. **(Ettinger et al ,2017)**

La présence de plus de 1% des érythrocytes anormaux dans le sang suggère une fragmentation des érythrocytes. Lorsque 10% ou plus des érythrocytes apparaissent fragmentés sur le frottis sanguin, les résultats cliniques et les autres résultats de laboratoire confirmeront probablement la présence d'une anémie hémolytique intravasculaire chez le patient. **(Ettinger et al ,2017)**



**Figure5 : Image d'un schizocytes au centre**



**Figure6 : Frottis sanguin présentant des kératocytes.**

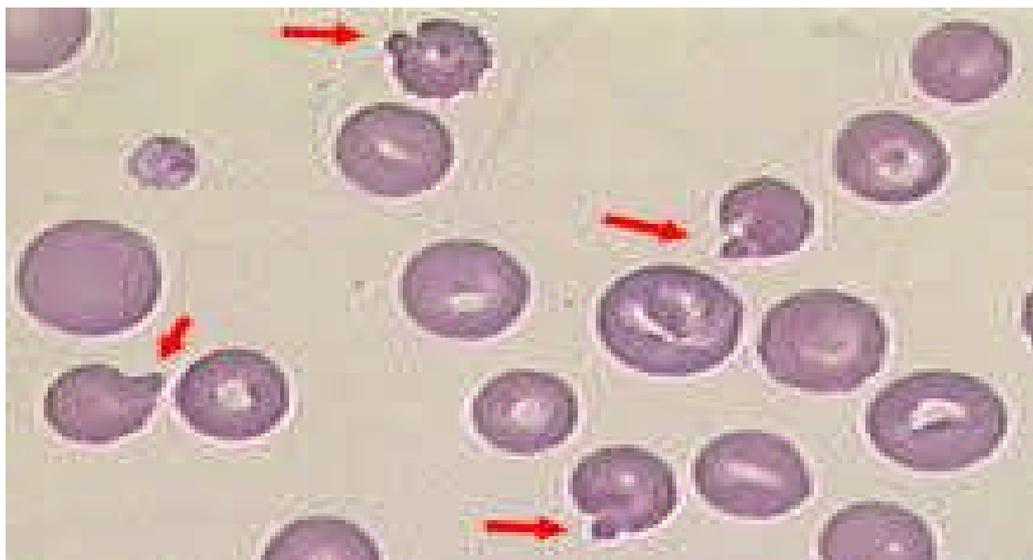
### **II-1-3 Lésion oxydative :**

Les lésions oxydatives indiquent une dénaturation de la protéine de l'hémoglobine, lorsque les systèmes antioxydants des érythrocytes sont débordés en raison de la circulation endogène ou exogène de toxines oxydatives. Les lésions oxydatives significatives sont indiquées par la présence de corps de Heinz et/ou d'eccentrocytes sur les frottis sanguins du patient. ( **Ettinger et al ,2017**)

Les corps de Heinz sont des protrusions uniques et arrondies de la membrane des érythrocytes (figure7), souvent accompagnées d'un « anneau » transparent de cytoplasme autour de la base de projection. Ils peuvent également correspondre à des zones excentrées, rondes et de couleur pales ou bien encore à des corps réfringents recouvrant les érythrocytes. La présence et le pourcentage d'érythrocytes contenant des corps de Heinz peut être déterminée avec précision en préparant des frottis sanguins humides ou secs, colorés par du bleu de méthylène 0,5 %.(**Ettinger et al ,2017**)

Les corps de Heinz se séparent parfois de la cellule durant la préparation de l'échantillon et sont visualisés sous la forme de petits corps sphériques, roses ou réfringents (ou colorés au BM) à l'arrière-plan du frottis. La taille des corps de Heinz varie selon la gravité des lésions oxydatives. (**Ettinger et al ,2017**)

La présence de corps de Heinz chez le chien et de nombreux(ou gros) corps dans les érythrocytes suggère une potentielle crise hémolytiques. Les eccentrocytes peuvent également être décelés dans les frottis sanguins des chiens exposés à des toxines oxydatives exogènes. Le cytoplasme de ces cellules est légèrement condensé et contient une région « fantôme » excentrée. Les toxines exogènes associées aux lésions oxydatives des érythrocytes chez le chien comprennent le paracétamol, le propyldisulfide des oignons, le naphtalène de la plupart des insecticides, les analgésiques topiques ou ingérés (ex :cetacaine, benzocaine) et le zinc ( dans la ferrure et les pièces de monnaie frappées après 1983).(Ettinger et al ,2017)

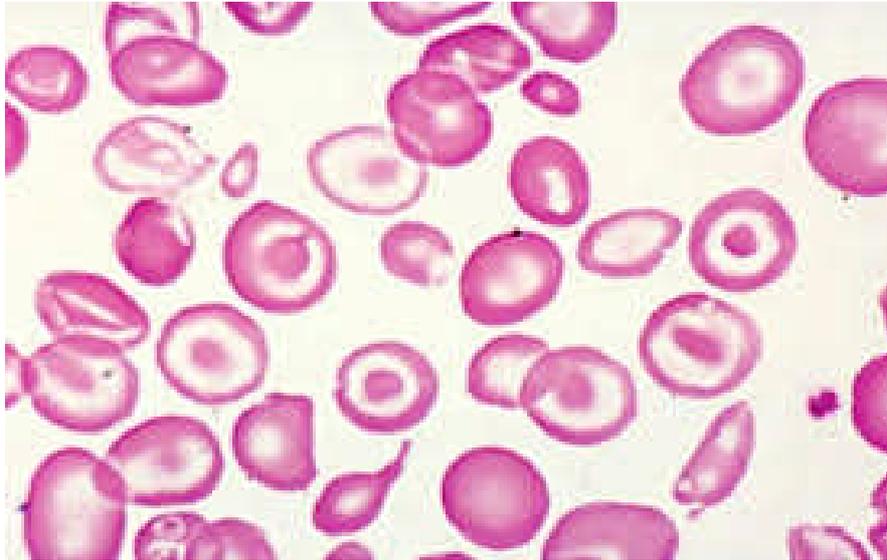


**Figure7 : Erythrocytes avec de corps de Heinz.**

#### **II-1-4 Poikilocytose :**

La poikilocytose est la présence d'une importante variation de forme dans un nombre significatif (généralement 10% ou plus) d'érythrocytes dans le sang. La poikilocytose est un terme non spécifique qui concerne les formes cellulaires observées sur les frottis sanguins et peut se référer aux acanthocytes, échinocytes, elliptocytes, codocytes et autres formes d'hématies(**figure 8**).(Ettinger et al ,2017)

Chez le chien, la poikilocytose a aussi été associée à des hépatopathies ainsi qu'à des taux lipidiques plasmatiques anormaux. Les poikilocytoses sont également souvent visualisés dans les frottis sanguins des animaux présentant des lésions de fragmentation érythrocytaires (généralement en association avec des schizocystes ,des kérateocytes et/ou des précurseurs de kérateocytes) et peuvent correspondre à des déformations artéfactuelles d'érythrocytes suite à la préparation du frottis.(Ettinger et al ,2017)



**Figure8 : Frotti sanguin avec une importante variation cellulaire (poikilocytose).**

### **II-1-5Autres altérations morphologiques :**

Les acanthocytes, qui peuvent généralement être différenciés des cellules crénelées par leur distribution au sein des frottis sanguins, sont des poikilocytes avec une ou plusieurs projections membraneuses irrégulièrement espacées et ressemblent beaucoup aux érythrocytes crénelés.(figure9) Les échinocytes, qui sont formés in vivo, sont rarement présents, tandis que les érythrocytes sont pratiquement tous crénelés dans les régions étalées du frottis.

**(Hoffman et al, 2013)**

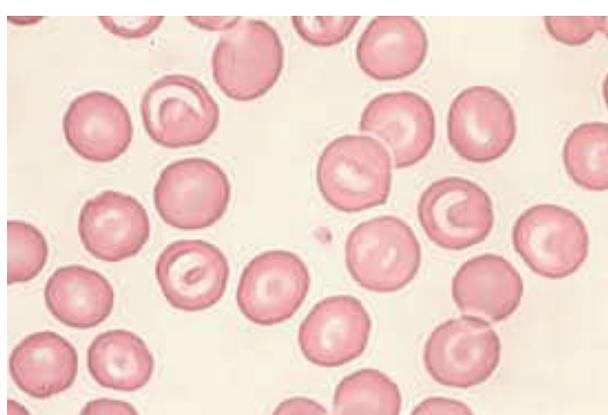
Les elliptocytes ou ovalocytes, sont des érythrocytes ovales avec des bords lisses ou festonnés qui (avec les acantocytes) sont spécifiquement associés à la lipidose hépatique chez le chat. **(Hoffman et al, 2013)**

Les codocytes ou cellules cibles, ont une forme tridimensionnelle en chapeau et apparaissent sur les frottis sanguins sous la forme d'érythrocytes avec des anneaux de cytoplasme pale ou incolore, qui séparent la région périphérique de la région centrale de la cellule.(figure10) Les codocytes correspondent à des érythrocytes avec un excès relatifde membrane en comparaison au volume de cytoplasme ; cette image est caractéristique des gros érythrocytes immatures.

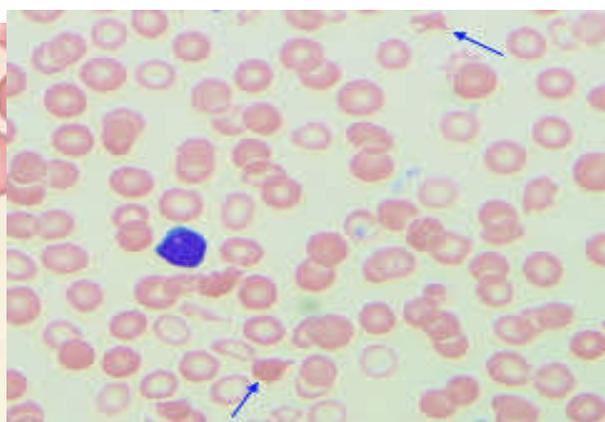
Chez le chien, les codocytes sont caractéristiques d'une hypercholestérolémie associée à un hyperthyroïdisme.**(Hoffman et al, 2013)**

Les lésions de fragmentations érythrocytaires pourraient être à l'origine de la poikilocytose observée chez certains chiens présentant une maladie rénale glomérulaire chronique et peuvent également expliquer en partie la poikilocytose communément observée chez les chiens atteints de lymphosarcome. C'est dernier ont souvent un métabolisme lipidique anormal. **(Hoffman et al, 2013)**

Sans tenir compte de la cause sous -jacente, la présence d'une poikilocytose modérée ou marquée sur le frottis sanguin peut être confirmée si une augmentation de la longueur de distribution des hématies ou un épaulement exagéré sur l'histogramme des érythrocytes est observé lorsque l'échantillon est analysé par des appareils d'analyses hématologiques. **(Hoffman et al, 2013)**



**Figure9 : Exemple des codocytes.**



**Figure10 : Exemple d'Acanthocytes.**

### **II-1-6 Lésions à médiation immune des érythrocytes :**

Les lésions à médiation immune des érythrocytes sont signalées par la présence de sphérocytes et/ou d'érythrocytes agglutinés sur les frottis sanguins. Les sphérocytes sont des petits érythrocytes (moins de deux tiers de diamètre normal) très colorés et qui ne sont pas pales au centre. (figure11) Ils apparaissent surtout suite à une opsonisation immune et une fragmentation de la membrane des érythrocytes par des cellules phagocytaires du système vasculaire. Ces lésions de la membrane affaiblissent la cellule, diminuent sa déformabilité et engendrent souvent une rupture cellulaire. **(Hoffman et al, 2013)**

Dans certains cas, le complément peut directement lyser les cellules opsonisées. Une sphérocytose significative (1%) est généralement associée à une anémie extravasculaire ou extra et intravasculaire. La sphérocytose ne peut être détectée de manière fiable que dans les espèces dont les érythrocytes ont une pâleur centrale distincte (ex :chiens) et seulement dans la monocouche des frottis sanguins. Cependant, à la fois les chiens et les chats atteints d'anémie hémolytique à médiation immune peuvent présenter une anocytose prononcée sur les frottis sanguins (en raison d'un mélange d'érythrocytes sphérocytiques, d'érythrocytes normaux et – dans les cas repense régénérative -d'érythrocytes de grande taille). **(Hoffman et al, 2013)**

Il est important de noter que des particules ressemblant à des sphérocytes peuvent également être observées dans quelques cas de lésions traumatiques des érythrocytes, en association avec des formes morphologiques typiques d'érythrocytes fragmentés.

**(Hoffman et al, 2013)**

L'agglutination des érythrocytes représente une forme particulièrement grave d'anémie hémolytique à médiation immune et peut être plus ou moins bien détectée dans le tube de prélèvement ou après étalement non coloré.(figure10)

Il est préférable de faire un test de dilution saline pour tous les échantillons suspects afin de faciliter la différenciation entre l'agglutination à médiation immune et les agglutinations non spécifique égales d'érythrocytes, également appelées « rouleaux ». le mélange de 2-3 gouttes de solution physiologique sur une lame de verre ou dans un tube permet de disperser les cellules qui sont simplement agglutinées ou en rouleaux. Les préparations non colorées et recouvertes d'une lamelle doivent être évaluées au grossissement X 40 en abaissant le condenseur. **(Hoffman et al, 2013)**



**Figure11 : Frottis sanguin d'un chien présentant une anémie hémolytique auto-immune**

## **II-2 Erythrocytes de taille anormale :**

Les tailles anormales d'érythrocytes peuvent être classées plus précisément en microcytose ou macrocytose. Les microcytoses sont des érythrocytes anormalement petits, tandis que les macrocytes sont des érythrocytes anormalement gros.

**(Nelson et al, 2014)**

Ils sont décelés au cours de l'évaluation des frottis sanguins ou lors de l'analyse automatisée de l'échantillon. Dans les frottis contenant des microcytes ou des macrocytes, l'anisocytose est souvent la seule anomalie visible. Il peut être difficile de savoir quelles cellule représentent la population anormale. Les leucocytes présents dans le frottis peuvent faciliter les comparaisons de taille.

**(Nelson et al, 2014)**

Le volume globulaire moyen (VGM) des érythrocytes est déterminé par des méthodes automatisées et peut caractériser des modifications du volume globulaire ,bien que ce soit un moyen moins sensible pour détecter les altérations de la taille cellulaire que l'étude minutieuse d'un frottis sanguin.( **Nelson et al,2014**)

Un shunt portosystémique et a été signalée comme étant une prédisposition non pathogène Une microcytose associée à une anémie hyporégénérative peut être observée chez les chiens et les chats qui présentent une anémie grave due à une carence en fer. (figure 13). ( **Nelson et al,2014**)

La diminution du diamètre globulaire est le résultat de la mitose supplémentaire durant l'érythropoïèse et d'une synthèse retardée de l'hémoglobine. ( **Nelson et al,2014**)

La microcytose est légèrement plus précoce que l'hypochromasie des érythrocytes chez les animaux présentant une carence en fer, mais l'hypochromasie est généralement l'anomalie cellulaire la plus apparente. La microcytose normochrome est un résultat sporadique chez les animaux présentant chez certains Akitas. ( **Nelson et al,2014**)

La macrocytose apparaît le plus souvent chez les animaux présentant une anémie régénérative. Elle reflète la taille relativement large des érythrocytes polychromatophiles immatures. La coloration polychromatophile de ces cellules est moins apparente avec les colorations rapides, si bien que les cellules peuvent apparaître sous la forme de macrocytes normochrome sur les frottis sanguin. Les vrais macrocytes normochromes sont causés par des troubles de la mitose chez les précurseurs des érythrocytes et peuvent être observés lors de la maladie myéloprolifératives et d'infections à FELV. La macrocytose normochrome peut également être détectée sur les frottis de certains caniches, en particulier chez les caniches toy et miniatures ; c'est une affection familiale sans signification clinique apparente. ( **Nelson et al,2014**)



**Figure12 : Des érythrocytes avec une large zone pale en leur centre et une fine bande périphérique de cytoplasme.**

### **II-3 Altération de la coloration des érythrocytes :**

#### **II-3-1 Polychromatophiles :**

Les polychromatophiles sont des érythrocytes immatures qui sont généralement plus gros et plus basophiles que les cellules matures. Les polychromatophiles peuvent représenter jusqu'à 0.5% et 1% des érythrocytes circulants, respectivement chez les chats et chiens en bonne santé. Des proportions plus élevées de polychromatophiles suggèrent une augmentation de l'érythropoïèse. (Nelson et al,2014)

#### **II-3-2 Hypochromasie :**

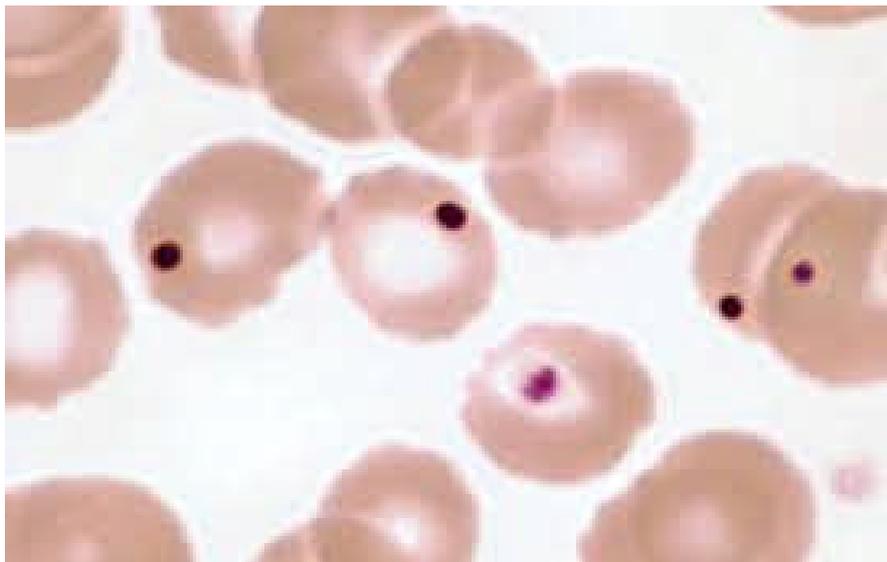
L'hypochromasie caractérise les érythrocytes présents lors de carences graves en fer. Le centre de ces cellules est plus pale. Ces hématies présentent un anneau périphérique relativement fin de cytoplasme coloré. Ils sont typiquement microcytaire et plus déformables que les érythrocytes normochromes . Ils se présentent souvent comme des poikilocytes, des cellules repliées et des codocytes sur les frottis sanguin. Les érythrocytes polychromatophiles sont considérés comme étant hypochromes en référence à leur contenu en hémoglobine bien qu'ils n'aient pas cette apparence sur les frottis sanguins colorés en routine.

**(Nelson et al, 2014)**

### II-3-3 Corps de Howell-Jolly :

Les corps de Howell-Jolly sont des inclusions sphériques bleu foncé ou noires qui s'observent généralement individuellement au sein du cytoplasme des érythrocytes.(figure14) Ces petites structures représentent les restes nucléaires qui n'ont pas été expulsés de la cellule durant la maturation. Les corps d'Howell-Jolly constituent parfois une découverte dépourvue de signification dans les érythrocytes chez le chien et le chat en bonne santé. . ( **Latimer , 2011** )

De nombreuses cellules peuvent contenir ces inclusions chez les animaux atteints d'anémie régénérative ou lors d'une baisse de la fonction splénique ainsi que chez ceux présentant une érythropoïèse anormale. Il est particulièrement important de ne pas confondre les corps d'Howell-Jolly avec d'autres inclusions cellulaires ou des parasites érythrocytaires. ( **Latimer , 2011** )



**Figure13 : Hématies présentant corps de Howell-Jolly.**

### II-3-4 Ponctuations basophiles :

Elles correspondent à une légère ponctuation du cytoplasme des érythrocytes sous la forme de fines granulations grises à bleues foncées. Ce résultat indique une perturbation de l'utilisation ou l'utilisation incomplète des polyribosomes, lors de la synthèse de l'hémoglobine et constituent le plus souvent un résultat non

spécifique chez le chien et le chat présentant une importance de repense régénérative à une anémie. (**Latimer, 2011**)

Les ponctuations basophiles sont classiquement associées au saturnisme chez le chien. Mais dans ce cas, leur présence est généralement limitée aux cas d'exposition grave au plomb avec ou sans anémie légère. (**Latimer, 2011**)

### **II-3-5 Erythrocytes nucléés :**

Les érythrocytes nucléés ou normoblastes, sont parfois observés dans le sang du chien et du chat en bonne santé.(figure15) De nombreux érythrocytes nucléés (mais généralement moins de 5 érythrocytes/100 leucocytes) sont observés sur les frottis sanguin des animaux présentant une anémie régénérative ou une dysfonction splénique. Cette dernière affection peut être associée à la présence transitoire de normoblastes lors de trauma splénique et plus rarement lors de tumeur splénique, d'inflammation ou d'hématopoïèses extra médullaire. (**Latimer, 2011**)

L'hyperadrénocorticisme, un stress physiologique grave ou une corticothérapie sont également associés à une diminution du piégeage splénique des cellules nucléées et à une éventuelle légère normoblastose. Un nombre variable de normoblastes circulants peut être observé chez les animaux atteints d'hémangiosarcome de la rate ou d'autres organes, ainsi que chez ceux présentant une maladie inflammatoire hépatique. (**Latimer, 2011**)

Les chiens de certaines races (ex : Schnauzer miniature, Teckels) possèdent un plus gros nombre d'érythrocytes nucléés, même en bonne santé. On suspecte plus particulièrement des troubles de la moelle osseuse, lors de choc hypovolémique et d'anémies aiguës prononcées par exemple, peut transitoirement perturber l'intégrité sinusoidale de la moelle et engendrer une normoblastémie légère à modérée (**Latimer, 2011**)

L'hypoxie de la moelle explique probablement que les érythrocytes nucléés soient communément associés avec-mais ne soit pas une indication de- une repense régénérative suite à une anémie. . (**Latimer, 2011**)

Dans les cas où on observe plus de 15 érythrocytes nucléés/100 leucocytes sur les frottis sanguins, une lésion grave de la moelle osseuse, un bouleversement de l'architecture ou une intoxication au plomb sont fortement suspectés. La myélose érythémique, une affection myéloproliférative qu'on retrouve surtout chez les chats, est caractérisée par une normoblastose importante du sang qui comprend des cellules de la lignée érythroblastique à différents stades (ex : érythroblastes acidophiles, érythroblastes polychromatophile et érythroblastes).

( Latimer , 2011)

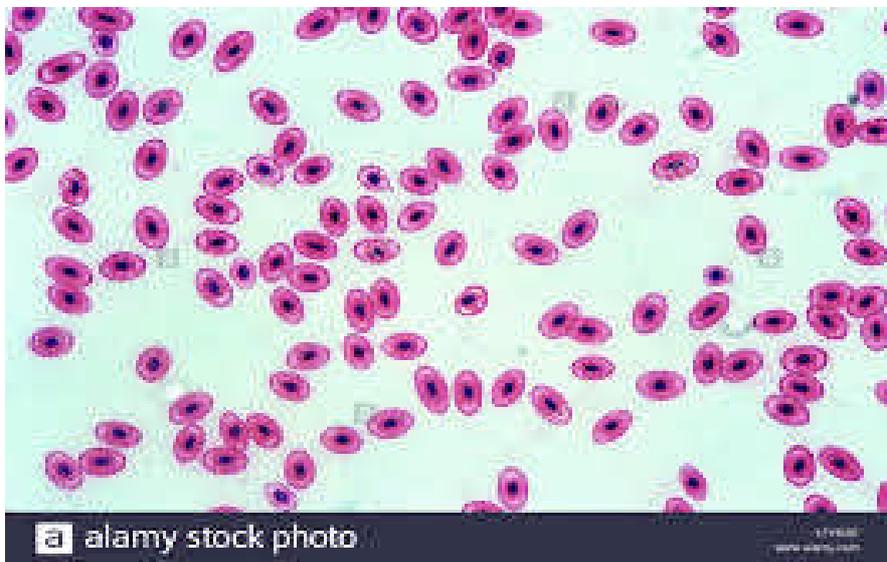


Figure14 : Frottis sanguin présentant des érythrocytes nucléés.

## II-4 Parasites érythrocytaires :

### II-4-1 Les babésioses :

Les babésioses sont des zoonoses dues à des protozoaires intra érythrocytaires cosmopolites de l'ordre des coccidies. Elles sont fréquentes chez les mammifères sauvages et domestiques (sous le nom de piroplasmose en raison de l'aspect piriforme des parasites) et assez rares chez l'homme. Il existe de très nombreuses espèces, correspondant à divers animaux, mais l'homme n'est concerné que par seulement quelques espèces : *Babesia divergens* et *Babesia microti*. ( Thrall et al, 2012)

### II-4-2 *Babesia* spp :

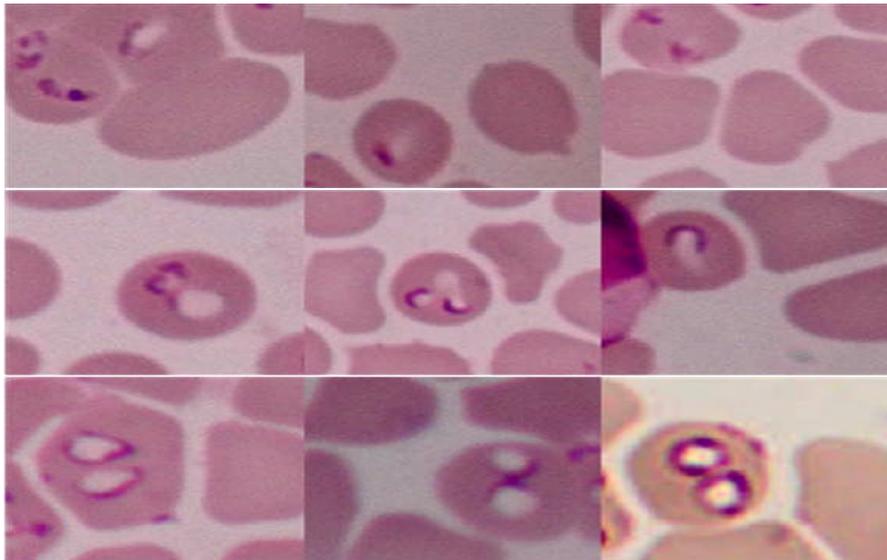
*Babesia* spp n'a été détectée que chez les chiens vivant en Amérique du Nord. Parmi les 2 espèces connues de *Babesia*, *B. canis* est la plus grande et la plus souvent observée. ( **thrall et al, 2012**)

Les formes pyriformes ou amiboïdes de *B. canis* peuvent s'étendre le long du diamètre des érythrocytes ;(figure16) les formes fusiformes ou les bacilles, généralement associés, sont beaucoup plus petites et difficiles à déceler. ( **thrall et al, 2012**)

Les *B. gibsoni* sont également petits et particulièrement pléomorphe. Ils se présentent sous la forme d'anneaux, de bacilles, de bandes ou bien ont une forme piriforme ou encore anaplasmoïde. ( **thrall et al, 2012**)

De nombreux organismes peuvent être observés dans un même érythrocyte lors d'infections aiguës par ces deux espèces ; cependant, seuls quelques rares parasites sont détectés lors de babésiose chronique. Leur détection peut être facilitée en examinant des frottis sanguins capillaires (ex : prélevés sur une veine de l'oreille) et les érythrocytes sont localisés immédiatement sous la couche leucocyto-plaquettaire d'un tube d'hématocrite. ( **thrall et al, 2012**)

Les cellules infectées se localisent plus souvent le long de la périphérie et du bord en fuseau du frottis. Une hémolyse intra vasculaire associée à une hémoglobinurie, une bilirubine et une bilirubinémie, peut également être diagnostiquée chez les chiens présentant une infection aiguë à *B. canis*. Une hémolyse extra vasculaire et parfois une grave anémie peuvent être observées dans les infections aiguës à *B. canis* et *B. gibsoni*. Les infections chroniques sont typiquement à l'origine d'une anémie plus ou moins régénérative associée à des signes cliniques et des résultats de laboratoire signalant une stimulation immunitaire chronique. ( **thrall et al, 2012**)



**Figure15 : Sang prélevé chez un chien atteint à Babesiocanis.**

### **II-5 Altérations de la morphologie et du nombre de plaquettes :**

La numération plaquettaire d'un patient peut être grossièrement estimée à partir de la monocouche du frottis, en l'absence d'amas de plaquettes le long du bord biseauté. A l'objectif à immersion foi 100, les plaquettes sont comptées

Dans chacun des 10 champs microscopiques, leur moyenne est calculée et la valeur obtenue est multipliée par 15000 afin d'obtenir l'estimation de leur nombre par Ul. Les amas de plaquettes suggèrent que leur nombre est au moins suffisant pour l'hémostase (50 000 plaquettes/UL).observation. **(Timbrell , 1998)**

Lorsqu'un nombre anormal de plaquettes est détecté dans le sang d'un chien , on observe plus souvent une thrombocytopénie qu'une thrombocytose. Une grande variété d'affections, les états inflammatoires et les tumeurs étant les deux situations les plus souvent associées à cette observation. **(Timbrell ,1998)**

thrombocytopénie	Thrombocytose
<p><b>Augmentation de la destruction :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Thrombocytopénie à médiation immune</li> <li>- Origine médicamenteuse (généralement un processus à médiation immune, ex : certains antibiotiques ou un traitement à l'héparine)</li> </ul> <p><b>Accélération de l'utilisation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Coagulation intra vasculaire disséminée</li> <li>- Thrombose d'un gros vaisseau</li> <li>- Hémorragie aigue grave (ex : certains cas de toxicités au brodifacoum)</li> </ul> <p><b>Augmentation de la séquestration dans les sites de stockage</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Affection splénique (splénomégalie, torsion splénique, congestion splénique grave et tumeur splénique)</li> <li>- Anaphylaxie, endotoxémie( séquestration dans la microvascularisation)</li> <li>- Certains médicaments ( ex : barbituriques)</li> <li>- Maladie d'Addison</li> </ul> <p><b>Diminution de la production</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Syndrome pancytopénique (ex : infection chronique à Ehrlichia canis, syndrome de Fanconi, toxicité aux œstrogènes)</li> <li>- Infiltration de la moelle (leucémie, myélofibrose, affections myélophtisiques)</li> <li>- Hématopoïèse cyclique.</li> </ul> <p><b>Causes diverses ou idiopathiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Certaines infections, en particulier celles concernant la moelle osseuse (ex : histoplasmosis), les infections virales pathologiques aiguës et les infections des rickettsiales</li> <li>- Néoplasie non leucémique</li> <li>- Septicémie bactérienne</li> <li>- Inflammation</li> </ul>	<p><b>Réactive</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hémorragie/hémolyse aigue</li> <li>- Augmentation de la granulopoïèse( en particulier lorsqu'elle est associée à une inflammation chronique)</li> <li>- Augmentation de l'érythropoïèse</li> </ul> <p><b>Relargage de site de stockage (thrombocytose transitoire)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Contraction splénique (peur, douleur, traumatisme, exercice physique, postopératoire)</li> <li>- Certains médicaments (ex : corticostéroïdes ou adrénaline)</li> <li>- Maladie de Cushing</li> <li>- Postsplénectomie</li> </ul> <p><b>Augmentation de la production</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Certains médicaments (ex : vincristine)</li> <li>- Syndrome myéloprolifératifs( ex : leucémie myélogène et myélose érythémique)</li> <li>- Causes diverses ou idiopathiques</li> <li>- Différentes néoplasies (ex : épithélioma spinocellulaire, mastocytome)</li> <li>- Déficience en fer</li> </ul>
<p><b>tableau 3 : Causes et affections associées aux altérations cliniquement significatives des numérations thrombocytaires sanguines chez le chien.</b></p>	

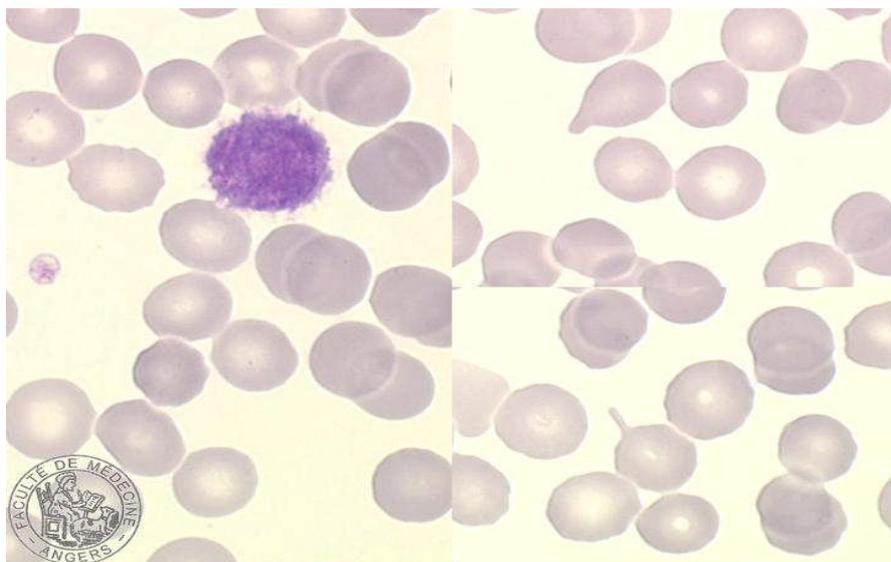
La thrombocytopénie et la thrombocytose sont typiquement associées à une diminution légère à modérée des numérations plaquettaires. **(Timbrell, 1998)**

Les thrombocytopénies les plus graves peuvent être généralement attribuées à 1 des 4 principales causes listées dans les exemples du tableau 3.

**(Timbrell, 1998)**

Les affections associées à une thrombocytose sont également listées dans le tableau 3. **(Timbrell, 1998)**

Les plaquettes de volume augmenté ont approximativement le même diamètre que les érythrocytes. Les plaquettes de cette taille sont rares dans le sang du chien normal. Les plaquettes géantes (« plaquettes de stress » ou mégathrombocytes)(figure17) sont plus grosses que les érythrocytes inhabituelles dans les frottis sanguins de chien en bonne santé. La présence de plaquettes géantes ou une augmentation du nombre de plaquettes de volume augmenté sur les frottis sanguins préparés en routine suggère une thrombopoïèse active, ou moins souvent, une thrombopoïèse anormale associée à une affection myéloproliférative ou une myélofibrose. Des plaquettes de forme irrégulière et/ou présentant des granulations inhabituelles peuvent être observées dans le sang des animaux présentant des troubles de la moelle osseuse, en particulier chez les animaux présentant des troubles myéloprolifératifs. **(Timbrell, 1998)**



**Figure16 : Thrombocyte de volume légèrement ou fortement augmenté chez un chien.**

## **II-6 Altérations des leucocytes :**

### **II-6-1 Modifications du nombre de leucocytes :**

Les numérations leucocytaires peuvent être grossièrement classées comme étant élevées, normales ou basses en examinant la monocouche et le bord biseauté du frottis sanguin avec un objectif foi 10 ou foi 20. Le pourcentage de chaque type de leucocyte peut être estimé en étudiant le frottis ou bien être déterminé par une numération leucocytaire différentielle. Les neutrophiles matures représentent le type leucocytaire le plus commun dans le sang du chat et du chien en bonne santé, respectivement 60% et 70% des numérations cellulaires différentielles. **(Timbrell ,1998)**

Les lymphocytes, le deuxième type le plus commun de leucocyte, représentent 20% de la numération différentielle chez le chien. **(Timbrell ,1998)**

Les monocytes constituent environ 5% des leucocytes du sang chez le chien. On rencontre habituellement 6 principaux types de changements dans la numération leucocytaire différentielle des animaux ; ils sont listés dans le 4ème tableau avec leur mécanisme général d'apparition. Les affections associées aux modifications du nombre de chaque type spécifique de leucocyte ont été publiées dans plusieurs ouvrages vétérinaires. **(Timbrell ,1998)**

leucocytose
<p><b>Reponse physiologique (par l'intermédiaire de l'adrénaline)(ex :peur, excitation, douleur )</b></p> <p>Neutrophiles : légère augmenter  Lymphocytes : augmentation  Monocytes : normal ou légère augmentation  Eosinophiles : normal ou augmentation  Basophiles : généralement absents</p> <p><b>Reponses causée par le stress (par l'intermédiaire des corticostéroïdes)</b></p> <p>Neutrophiles : augmentation  Lymphocytes : diminution  Monocytes : augmentation (chez les chiens) ou variable ( chez les chats)  Eosinophiles : diminution  Basophiles : absents</p> <p><b>Affections inflammatoires aiguës</b></p> <p>Neutrophiles : augmentation, avec généralement un déplacement vers les stades immatures  Lymphocytes : normal ou diminution  Monocytes : normal ou augmentation  Eosinophiles : normal ou diminution  Basophiles : généralement absents</p> <p><b>Affections inflammatoires chroniques</b></p> <p>Neutrophiles : augmentation, avec ou sans déplacement vers les stades immatures  Lymphocytes : généralement diminution, en particulier dans le cas de maladies infectieuses chroniques  Monocytes : généralement augmentation</p>
Leucopénie
<p><b>Cytopénies aiguës (ex : infections systémiques aiguës, infections virales, endotoxémie, anaphylaxie)</b></p> <p>Neutrophiles : diminution ( peuvent présenter une augmentation du nombre de neutrophiles immatures dans les cas de maladies inflammatoires aiguës)  Lymphocytes : souvent diminution  Monocytes : variables ( ex : souvent diminués en cas de cytopénie aiguës à médiation immune)  Eosinophiles : diminution  Basophiles : absents</p> <p><b>Cytopénies chroniques (ex : infiltration de la moelle osseuse et/ou infection de la moelle, anémie aplasique ou toxicité aux estrogènes)</b></p> <p>Neutrophiles : diminution  Lymphocytes : généralement normal ou augmentation (augmentation en cas de stimulation immune chronique)  Monocytes : généralement normal ou augmentation (peuvent en partie compenser la neutropénie)  Eosinophiles : variable  Basophiles : variable</p>

**Tableau4 : Modifications courantes de la numération leucocytaire différentielle.**

## **II-7 Altération de la morphologie des leucocytes :**

### **II-7-1 Modifications neutrophiliques d'origine toxique :**

Les modifications neutrophiliques d'origine toxique constituent probablement les altérations morphologiques leucocytaires les plus fréquemment détectées sur les frottis sanguins. Ces modifications granulaires sont le résultat d'une granulopoïèse anormale et signalent l'existence d'un effet inflammatoire systémique sur la moelle osseuse. Les modifications les plus sévères sont principalement observées chez les animaux présentant une septicémie, une endotoxémie ou une nécrose tissulaire. Les modifications d'origine toxiques sont des anomalies qualitatives des neutrophiles et leur gravité ou degré d'altération est considérée comme au moins aussi significative que la proportion des cellules impliquées. **(Ettinger et al, 2017)**

Les corps de Döhle représentent la forme la plus légère de modifications neutrophiliques d'origine toxique. Ces taches grises irrégulières dans le cytoplasme des neutrophiles représentent des agglutinations anormales du réticulum endoplasmique. Les corps de Dohle signalent toujours un effet systémique de l'inflammation chez le chien. **(Ettinger et al, 2017)**

La basophilie cytoplasmique est une forme plus sévère de modification d'origine toxique. Elle se présente sous la forme d'un cytoplasme pâle, homogène, bleu ou tacheté en bleu violet. Comme c'est le cas pour le corps de Dohle, la basophilie cytoplasmique peut avoir lieu dans les métamyélocytes ainsi que dans les neutrophiles matures. **(Ettinger et al, 2017)**

Une vacuolisation cytoplasmique mousseuse signale une toxicité systémique grave et est engendrée par la formation anormale de lysosomes et la libération intracellulaire d'enzymes autolytiques. Ces modifications d'origine toxique se présentent sous la forme de nombreuses vacuoles vaguement définies, dispersées dans le cytoplasme, avec une apparence de bulles de savon. **(Ettinger et al, 2017)**

La granulation toxique est une image inhabituelle qui apparaît dans les cas de granulopoïèse très anormale. Les petites granulations cytoplasmiques

dispersées, roses rouges représentent les granulations mucopolysaccharidiques primaires conservées qui disparaissent normalement durant la maturation des neutrophiles. **(Ettinger et al, 2017)**

Les neutrophiles géants apparaissent à la suite de divisions mitotiques incomplètes de cellules souches neutrophiliques se développant rapidement. Les neutrophiles géants ont la même apparence que les métamyélocytes ou les neutrophiles matures, mais fond le double de leur taille. Ils s'observent généralement plus souvent chez le chat présentant une neutropoïèse toxiques que chez le chien. **(Ettinger et al, 2017)**

Les noyaux en forme d'anneau des neutrophiles sont un signe d'extrême toxicité systémique et sont typiquement associés à une septicémie. Lorsqu'on recherche des modifications d'origine toxique dans les frottis sanguins, il est important de ne pas confondre des noyaux de neutrophiles dont les extrémités se chevauchent avec les noyaux toxiques en forme d'anneau. **(Ettinger et al, 2017)**

### **II-7-2 Granulocytes immatures :**

Une augmentation du nombre de granulocytes dans le sang du chien est généralement occasionnée par un processus inflammatoire. En temps normal ou durant un processus inflammatoire, les granulocytes sortent de la moelle osseuse de manière ordonnée, selon leur stade de maturation. Pour chaque lignée de granulocyte, les stades les plus matures sont toujours les plus nombreux dans le sang. Les cellules de stade exécutive ment moins matures apparaissent dans le sang en nombres directement proportionnels à leur niveau de développement. **(Latimer, 2011 )**

Le pronostic est particulièrement réservé lorsque le nombre total de neutrophiles immatures, y les métamyélocytes, est supérieur au nombre de neutrophiles matures segmentés sur un leucogramme inflammatoire. Le pronostic est similaire lorsque 10% ou plus des neutrophiles circulants sont immatures chez un animal présentant une neutropénie. Ces deux situations sont appelées dérive à gauche dégénérative. De plus, la définition précise du stade du granulocytes

immatures peut s'avérer difficile en raison du développement cellulaire asynchrone lors de repense inflammatoire particulièrement prononcées. On peut souvent reconnaître ce phénomène en observant un retard dans le changement de la forme nucléaire par rapport à la condensation de la chromatine et au développement cytoplasmique. **(Latimer, 2011)**

Les granulocytes non segmentés contiennent des granulations cytoplasmiques spécifiques pour chaque type cellulaire et des noyaux généralement similaires à ceux des neutrophiles matures, mais ne possèdent pas segmentation distincte, et contiennent une chromatine moins condensée. **(Latimer, 2011)**

Les métamyélocytes contiennent des noyaux en forme de haricot ou de sablier avec des amas plus petits d'hétérochromatine, en nombre moins important et plus largement dispersés, en comparaison avec les noyaux segmentés des granulocytes. Le cytoplasme des métamyélocytes neutrophiliques peut être rose pâle ou plus ou moins basophile, selon le degré d'immaturité et les modifications d'origines toxique. Des granulations cytoplasmiques spécifiques pour chaque type cellulaire sont présentes et prédominent généralement dans les métamyélocytes éosinophiles et basophiles. **(Latimer, 2011)**

Les myélocytes possèdent des noyaux ronds ou ovales, un peu excentrés, qui sont parfois légèrement aplatis sur un côté ; leur chromatine épaisse sépare quelques amas plus denses. Les myélocytes sont plus gros, avec un rapport nucléocytoplasmique considérablement plus élevé que la plupart des leucocytes matures. Le cytoplasme est légèrement basophile et contient des granulations spécifiques pour chaque type cellulaire. **(Latimer, 2011)**

### **II-7-3 Anomalie de Pelger-Huet :**

Il s'agit d'une affection congénitale qui empêche tous les noyaux de granulocytes de se segmenter. La condensation de la chromatine et le développement cytoplasmique des cellules circulantes affectées ressemblent à ceux

des granulocytes matures normaux. Les repenses immunitaires des individus affectés ne semblent pas être perturbées. **(Thimbrell, 1998)**

Cette anomalie est une découverte idiosyncrasique chez plusieurs race de chien, de race croisées. Les granulocytes des animaux atteints de l'anomalie de Pelger-Huet peuvent généralement être différenciés des cellules immatures provenant d'une réponse inflammatoire, en se fondant sur l'uniformité et l'absence de modifications toxiques dans les cellules présentant cette anomalie. **(Thimbrell, 1998)**

#### **II-7-4 Neutrophiles hypersegmentés :**

Les neutrophiles hypersegmentés dans le sang sont restés en circulation pendant une période prolongée au lieu de migrer dans les tissus. Ces cellules, qui sont des neutrophiles avec au moins 5 séparations distinctes entre les lobes nucléaires, peuvent être observées dans le sang de patients présentant des taux plus élevés plus élevés de corticostéroïdes exogènes ou endogènes dans la circulation. Des neutrophiles hyper segmentés sont parfois visualisés dans le sang des animaux présentant une neutrophilie marquée associée à une inflammation chronique, ainsi que pendant une brève période suivant le traitement ou l'élimination de la source de l'inflammation. **(Thimbrell, 1998)**

Les neutrophiles hypersegmentés peuvent être différenciées des cellules partiellement pycnotiques qui sont vieilli in vitro en recherchant des signes de vieillissement in vitro dans les autres leucocytes du frottis. **(Thimbrell, 1998)**

#### **II-7-5 Lymphocytes réactifs :**

Les lymphocytes réactifs sont des cellules T et B stimulées par une synthèse régulée par des médiateurs et/ou par des immunoglobulines inflammatoires. **(Thimbrell , 1998)**

Ces cellules sont généralement plus grosses, avec moins de chromatine nucléaire condensée que les petits lymphocytes matures plus communément

observés. La basophilie cytoplasmique intense des lymphocytes réactifs s'explique par la présence de nombreux polyribosomes ainsi que par une augmentation de la synthèse protéique. Cette coloration constate généralement avec la zone de Golgi claire périnucléaire. La présence de lymphocytes réactifs dans le sang signale l'existence d'une stimulation immunitaire sans pouvoir déterminer son origine spécifique. (Thimbrell, 1998)

#### **II-7-6 Mastocytes :**

Des mastocytes ont été observés dans le sang de chiens atteints de mastocytose systémique et en très faible nombre sur les frottis systémiques de chiens atteints de graves affections inflammatoires. (Thimbrell, 1998)

#### **II-7-7 Figures mitotiques :**

Les figures mitotiques sont rarement observées sur les frottis sanguins. Lorsqu'elles sont présentes, elles se visualisent le plus fréquemment au niveau de l'extrémité en biseau du frottis et sont observées dans une population cellulaire leucémique. Les figures mitotiques sont visualisées dans de rares cas dans le sang d'animaux non leucémique, en particulier lors de lymphocytose réactive. (Thimbrell, 1998)

#### **II-7-8 Inclusions au sein des leucocytes :**

Sur les frottis sanguins, les inclusions dans les leucocytes représentent généralement du matériel phagocyté, y compris d'autres cellules, des débris cellulaires et des organismes infectieux. (Thimbrell, 1998)

Les érythrocytes phagocytés, ainsi que l'hématidine ou l'hémosidérine phagocytée (apparaissant comme du matériel marron ou noir) ne sont que rarement observés dans les monocytes et neutrophiles circulants des animaux et sont généralement associés à des repenses inflammatoires marquées ou des anémies hémolytiques. (Thimbrell, 1998)

Des inclusions du virus de la maladie de carré peuvent être présentes à la fois dans les leucocytes (lymphocytes neutrophiles et monocytes) et les dans les érythrocytes. Ces inclusions sont pathognomoniques de l'infection et apparaissent sous la forme d'un ou deux petits corps éosinophiles, ronds ou ovales, de taille variable dans le cytoplasme des lymphocytes et des monocytes. Dans les neutrophiles, ils se présentent sous la forme de petits corps éosinophiles ou basophiles. Des inclusions virales peuvent également être observées dans les érythrocytes, en plus ou à la place de celle déjà présentes dans les leucocytes. Lorsqu'elles sont observées au sein des érythrocytes, les inclusions sont présentes dans un pourcentage relativement élevé de cellules et apparaissent sous la forme de structures rondes ou irrégulière, bleues pales, roses ou rouges marrons. **(Thimbrell, 1998)**

L'apparition de ces inclusions dans les cellules sanguines des chiens infectés est très variable selon des différents stades de la maladie, même chez le même individu. On les retrouve le plus souvent dans les stades précoces de l'infection mais elles sont rarement observées durant la phase neurologique de la maladie. **(Thimbrell, 1998)**

Des morulas d'Ehrlichiaewingii et d'E.canis peuvent être observées au niveau de leucocytes de chiens vivants dans certaines régions. Les morulas E.ewingii s'observent communément dans les neutrophiles circulants de chiens affectés de manière aigüe. Inversement, les morulas de E.canis présents dans les lymphocytes et monocytes de chien ne peuvent être que rarement détectées et ce uniquement aux stades précoces de l'infection. **(Thimbrell, 1998)**

Les morulas des 2 espèces d'Ehrlichia sont des corps bien définis, ronds ou ovales, éosinophiles ou basophiles, situés dans le cytoplasme des cellules affectées. Avec une bonne résolution microscopique, les morulas peuvent être visualisées sous la forme d'un nombre variable de coques. Les chiens présentant des morulas E.ewingii dans les neutrophiles en circulations peuvent être asymptomatiques ou malade avec de la fièvre, présenter une lymphadénopathie et/ou une polyarthrite

aigue. Les chiens atteints d'infections à *E.ewingii* sont souvent thrombocytopéniques, mais ne souffrent pas de pancytopénie grave, classiquement associée aux infections chroniques à *E.canis*.(Thimbrell, 1998)

Les gamétocytes d'*Hepatozooncanis* sont rarement observés dans les cellules sanguines (neutrophiles et monocytes) de chiens affectés avec cet organisme. (Thimbrell, 1998)

Malgré la grave leucocytose associée à cette maladie (ex : 20 000 à 200 000 leucocytes/ $\mu$ l). Les gamétocytes ne sont généralement observés que dans quelques cellules nucléées en circulation. Les *Hépatozooncanis* sont apparaissent sous la forme de bacilles avec des taches éosinophiles. Ils sont suffisamment grands pour déplacer les noyaux cellulaires et déformer les bordures cytoplasmiques. On observe souvent des capsules transparentes car les parasites s'échappent des cellules sanguines lors du changement de température au moment du prélèvement de l'échantillon. Ce phénomène peut expliquer pourquoi les organismes sont si rares dans les leucocytes des frottis sanguins. L'infection est principalement associée à une hyperesthésie musculaire, de la fièvre et parfois des proliférations périostées des vertèbres et des os longs. (Thimbrell, 1998)

### **II-7-9 Leucémie :**

Sur un frottis sanguin, la présence de cellules atypiques ou étranges, ou de cellules immatures désordonnées, est caractéristiques d'une leucémie. Une augmentation persistante et inexplicée d'un type cellulaire spécifique dans le sang peut également signaler la présence d'une leucémie, comme c'est le cas pour la leucémie lymphocytaire chronique.(Nelson et al ,2014)

La majorité des chiens atteints de leucémie présentent une leucocytose modérée ou marquée (> 50 000 leucocytes/ $\mu$ l chez le chien), qui est principalement composée d'une population cellulaire néoplasique. Les exceptions sont cependant fréquentes et certains patients présentent même une leucopénie. Les numérations érythrocytaires et plaquettaires du sang sont généralement perturbées

(le plus souvent diminuées) chez les chiens leucémiques. Au même moment, des érythrocytes macrocytaires et des mégathrombocytes, des plaquettes granulées de forme anormale et/ou une augmentation du nombre d'érythrocytes nucléés, peuvent être visualisés sur les frottis sanguins et confirment l'envahissement de la moelle osseuse. **(Nelson et al ,2014)**

Une monocytose est également souvent présente et on observe dans certains cas une éosinophilie ou une basophilie en plus des cellules nucléés néoplasiques présentes dans le sang. Le nombre de neutrophiles et de lymphocytes dans le sang des chiens atteints de leucémie est variable. On observe rarement une dérive vers des stades cellulaires immatures et/ou des modifications toxiques à moins qu'une inflammation systémique secondaire ou une nécrose tissulaire ne soit présente. Des neutrophiles hypersegmentés peuvent également être visualisés dans certains cas **(Nelson et al ,2014)**

En raison de l'immaturation et de l'anaplasie, il est souvent difficile, voire impossible, de reconnaître la lignée cellulaire dont les cellules leucémiques proviennent, en évaluant des frottis sanguins colorés en routine. **(Nelson et al ,2014)**

Le myélogramme est nécessaire pour confirmer la leucémie et établir un pronostic ; cependant, les cellules leucémiques au sein de la moelle osseuse étant typiquement plus immatures que celles dans le sang, cette procédure ne permet pas d'identifier spécifiquement le type des cellules à moins d'utiliser un produit cytochimique spécial et une coloration immunocytochimique. L'anamnèse du patient, l'observation de cellules présentant des modifications de nature leucémique et les anomalies hématologiques associées permettent de suspecter quelques-unes des leucémies les plus communes chez le chien, décrites dans les paragraphes suivants. **(Nelson et al ,2014)**

## **II-7-10 Leucémies lymphoïdes :**

Deux formes principales de leucémie lymphoïde sont observées chez le chien :

La leucémie lymphoblastique aigue (LLA) et la leucémie lymphocytaire chronique (LLC). **(Nelson et al ,2014)**

La LLA affecte plus souvent les jeunes adultes ou les animaux d'âge moyen, tandis que la LLC est plus fréquente chez les chiens de plus de 7 ans .les cellules blastiques circulantes de la LLA sont généralement présentes en grand nombre et possèdent des noyaux ovales ou en forme de feuille de trèfle, avec une chromatine dentelée et épaisse et une quantité modérée de cytoplasme basophile.**(Nelson et al ,2014)**

Ces cellules peuvent également contenir au moins un nucléole foncé de taille variable. Les cellules néoplasiques de la LLC sont toujours très nombreuses dans le sang et ressemblent aux lymphocytes matures ; leur taille tend cependant à être plus variable, leur cytoplasme est particulièrement plus foncé et il contient quelques vacuoles cytoplasmiques. **(Nelson et al ,2014)**

Comme pour les autres types cellulaires leucémiques, ces cellules peuvent être cytophages et érythrophages. Environ la moitié de cas de LLC canines sont associés à une gammopathie monoclonale. De plus environ 10% des lymphomes canins, en particulier les formes multicentriques et les stades avancés, présentent des cellules lymphoïdes décelables dans la circulation, bien que ces cellules soient généralement présentes en nombre beaucoup moins élevés que les cellules leucémiques chez les chiens atteints de LLA et LLC. Les lymphomes félines sont rarement associés à des cellules néoplasiques circulantes. **(Nelson et al ,2014)**

## **II-7-11 Leucémies myéloïdes :**

Chez le chien, une leucémie de chaque type cellulaire a été reportée, y compris la mastocytose (systémique) maligne et les leucémies basophiliques et mégacaryocytaires. **(Thrall et al, 2012)**

Les leucémies myéloïdes et myélomonocytaires aiguës sont particulièrement fréquentes chez les chiens. **(Thrall et al, 2012)**

La leucémie myélogène (granulocytaire) aiguë apparaît principalement chez les jeunes animaux, y compris les chiens de moins de deux ans. La leucocytose est généralement extrême et est composée d'un mélange désordonné de cellules immatures qui ressemblent à des myéloblastes, de neutrophiles non segmentés, de métamyélocytes géants et de métamyélocytes neutrophiles, avec une plus petite population isolée de granulocytes qui semblent normaux ou hypersegmentés. Les cellules myéloïdes immatures possèdent une chromatine dentelée ou grossière, finement ponctuée et parfois des nucléoles apparents. Leur cytoplasme est relativement abondant et bleu gris, avec une consistance de verre dépoli. Il contient parfois de fines granulations éosinophiles dispersées. **(Thrall et al, 2012)**

Une leucémie myélomonocytaire aiguë est suspectée si parmi les cellules néoplasiques circulantes les plus différenciées, certaines ont une apparence monocytoïde tandis que les autres ressemblent à des cellules granulocytaires immatures (en se fondant sur la forme nucléaire, sur l'aspect de la chromatine et sur les caractéristiques cytoplasmiques). **(Thrall et al, 2012)**

## **II-7-12 Leishmaniose Canine :**

Le parasite peut être détecté sur des préparations de sections de tissus colorés à l'hémalun-éosine classique mais leur détection est plus difficile que lors de cytologies. Une recherche longue et laborieuse est souvent nécessaire pour voir les amastigotes, étant donné la difficulté pour reconnaître le parasite. Les changements morphologiques consécutifs à la présence du parasite peuvent être également mis en évidence. **(Latimer, 2011)**

Dans la mesure où l'examen histologique révèle des modifications tissulaires mais qu'aucun parasite n'a été mis en évidence, une coloration immunohistochimique peut être réalisée en utilisant des anticorps anti-leishmanies. Cette méthode présente limite de donner des faux positifs compte tenu des réactions croisées potentielles. **(Latimer, 2011)**

De même que pour la cytologie, en cas de résultats négatifs, des tests moléculaires peuvent être faits. **(Latimer, 2011)**

Bien que la faible sensibilité de cette technique soit reconnue, il a été montré que l'observation d'aspiration du nœud lymphatique poplité était plus sensible que l'observation d'aspirations de rate ou de moelle osseuse. Dans cette étude, les prélèvements ont été réalisés post-mortem, mais des biopsies sur des chiens vivants sont envisageables en clinique et présentent une sensibilité légèrement inférieure. **(Latimer, 2011)**

# III Partie expérimentale

### **III-1 Présentation de région d'étude :**

Sexe dans la clinique des carnivores. La présente étude a été réalisée dans la région de Tiaret à l'institut des sciences vétérinaire, les échantillons du sang ont été prélevés des chiens venus en consultation de différentes âges et races.

### **III-2 Matériels et méthodes :**

- Durant cette recherche nous avons pris 29 sujets de différentes races et âges, et Pour la réalisation de ce travail, le matériel suivant a été utilisé :

- Lames.
- Portes lames.
- Microscope simple.
- Microscope muni d'un appareil photo.

Ce travail, a été réalisé en deux étapes :

- 1ere étape : sur le terrain portant sur le prélèvement sanguin et la réalisation des frottis.

- 2 ème étape : au niveau du laboratoire d'histologie du département, portant sur la coloration des frottis et l'examen microscopique.

### **III-3 Réalisation d'un frottis sanguin :**

1. **Nettoyer** : 2 lames à l'alcool (faces et tranches), les sécher avec du papier Absorbant, les déposer sur papier absorbant.

2. **Prélever** : une goutte de sang à l'aide du compte-goutte.

3. **Déposer** : la goutte de sang à l'extrémité d'une lame .(figure15)

4. **Appliquer** : une autre lame inclinée à 45° en avant de la goutte de sang de façon à ce que le sang s'étale sous la lame par capillarité .

5. **Faire** : glisser la lame inclinée à 45° pour étaler uniformément la goutte (figure 4).

6. **Sécher** : le frottis avec le sèche-cheveux.

7. **Repérer** : au marqueur, avec une lettre F, la face où se trouve le sang.

### **Coloration frottis sanguin: May Grünwald Giemsa :**

#### **1- Fixation :**

- Placer la lame du frottis sur un support horizontal au-dessus d'un bac de coloration.

- Verser sur la lame 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur de façon à recouvrir complètement le frottis. Laisser agir 3 minutes.

#### **2- Coloration au May-Grünwald :**

- Ajouter autant de gouttes d'eau neutre que de gouttes de colorant, le mélange est rapide.

- Laisser agir 2 minutes. (Préparer la dilution du Giemsa pendant ce temps.)

- Rejeter le colorant par un jet d'eau neutre.

#### **3- Coloration au Giemsa :**

- Préparer la dilution du Giemsa pendant les 3 minutes précédentes : pour cela introduire 20 cm<sup>3</sup> d'eau neutre dans une éprouvette graduée, ajouter 30 gouttes de colorant de telle manière que celui-ci reste à la surface de l'eau neutre.

- Verser le contenu de l'éprouvette dans une boîte de Laveran. Dès que la lame est prête, mélanger en agitant doucement (le pouvoir colorant est maximum au moment du mélange).

- Déposer la lame (frottis en dessous) dans la boîte, **laissé agir 20 minutes** (Giemsa lent).

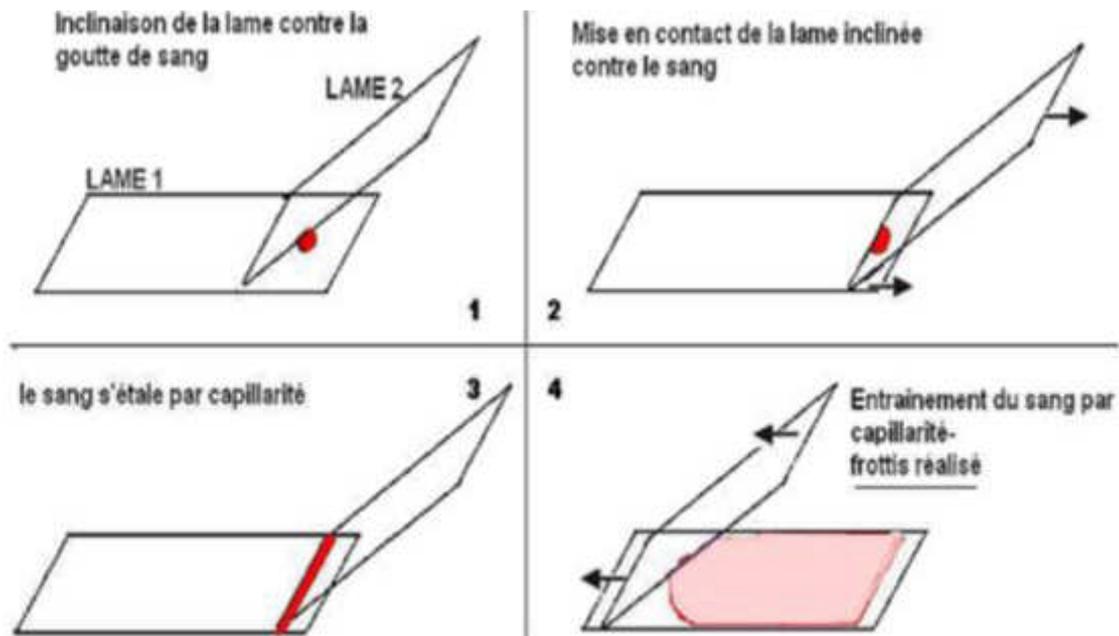
Rincer sous un jet d'eau neutre.

#### **4- Séchage**

- Laisser sécher la lame à l'air, en position inclinée, après avoir essuyé la face

- Inférieure de la lame avec du papier filtre.

- Attendre au moins **5 minutes** avant l'examen microscopique du frottis.



**Figure17 : Description des différentes étapes pour la préparation d'un frottis sanguin.**



**Figure 18: Exemple d'un frottis sanguin réussi.**

### **III-4 Prise des photos :**

Elle est faite grâce à l'utilisation d'un appareil photo intégré dans le microscope (ZEISS : AXIOSKOPE 20), la sensibilité de cet appareil est réglée à celle de la pellicule utilisée (100 ASA), et les photos sont développées sur un C.D.ROM.

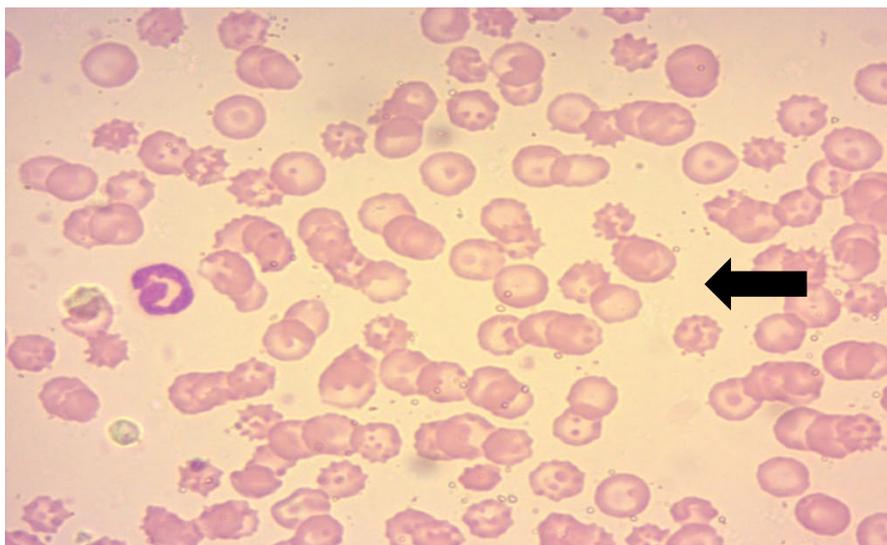
### **III-5 Résultat et discussion :**

-L'examen microscopique des frottis sanguins a permis de déterminer les anomalies suivantes

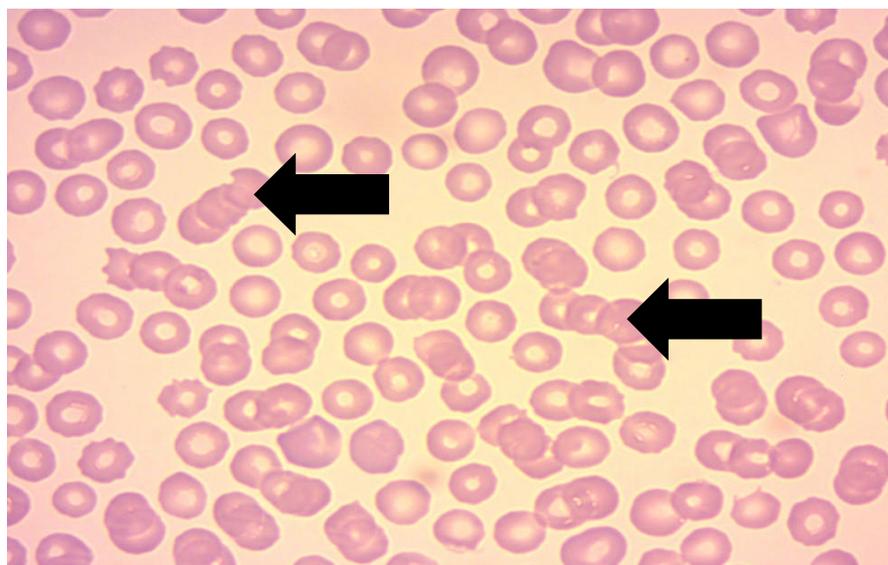
Frottis	Poikilocytoses	Macrocytoses	Polychromatophiles	Schyzocytes	Cellule Cible	En Rouleaux	Dacryocytes	Hypochromasie
1								×
2				qlq	×			
3				×		×		
4				xxx				
5			×	×		×		
6	×			×		×		
7				xxx	×	×		
8						×		×
9		×		×		×		
10	×			qlq				
11				qlq			×	
12				xxx		xxx	×	
13					×		×	
14					×	×	×	
15							×	
16	×			xx				
17					×			×
18							qlq	
19				xx				
20					×		×	
21				xxx				
22	×							
23	×					×		
24							×	
25	×							
26	×			xx				
27				xxx				
28				qlq				×
29	×			xxx				

**Tableau 5 : Les différentes anomalies de globules rouges trouver durant la réalisation de l'étude.**

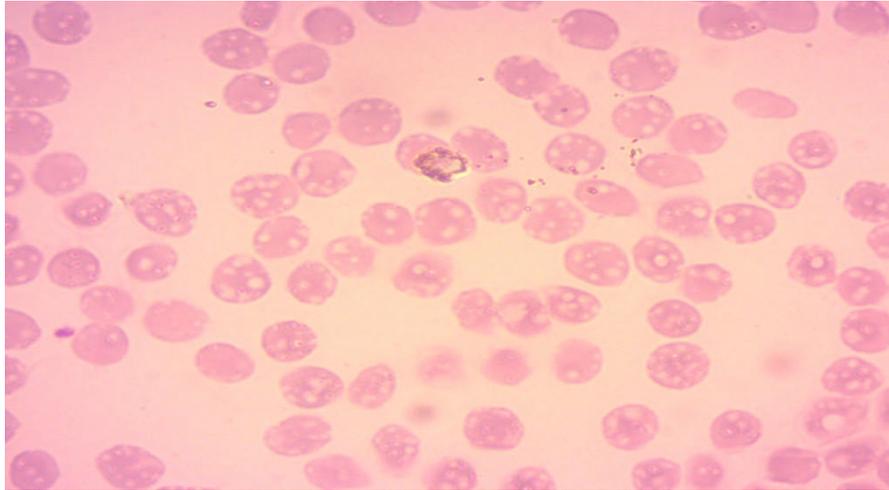
Les résultats de tableaux sont traduits par la prise de photos ci-dessous :



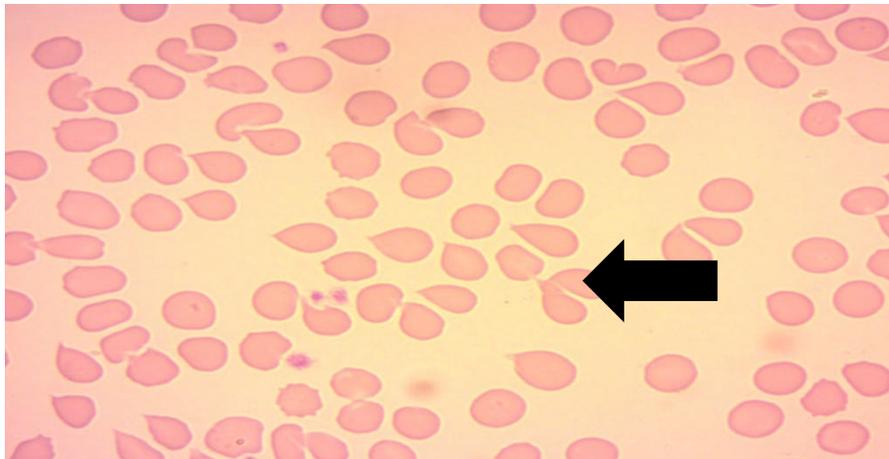
**Figure 19** : Frottis sanguin d'un chien présentant des schyzocytes (flèche), **H&E, 100X**.



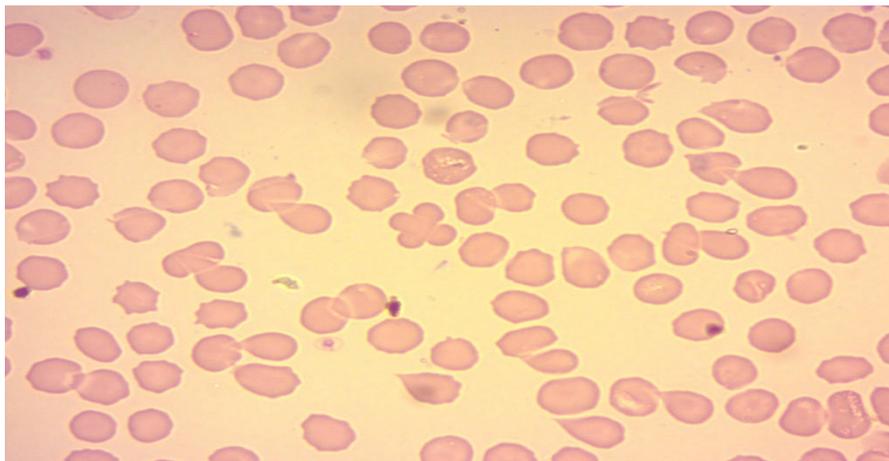
**Figure 20** : Frottis sanguin d'un chien présentant des hématies en rouleaux (flèche)**H&E,100X**.



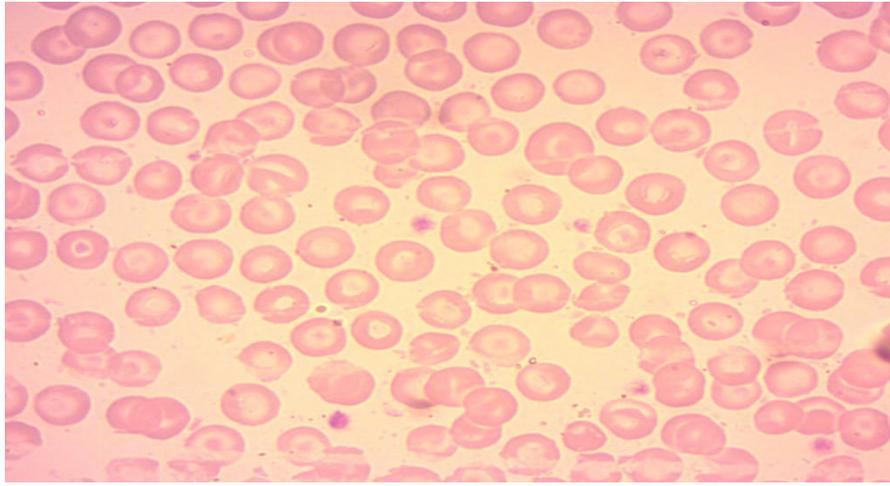
**Figure21** : Frottis sanguin d'un chien présentant une macrocytose avec présence des vacuoles au niveau des érythrocytes qui n'étaient pas suffisamment séchés **H&E ,100X**



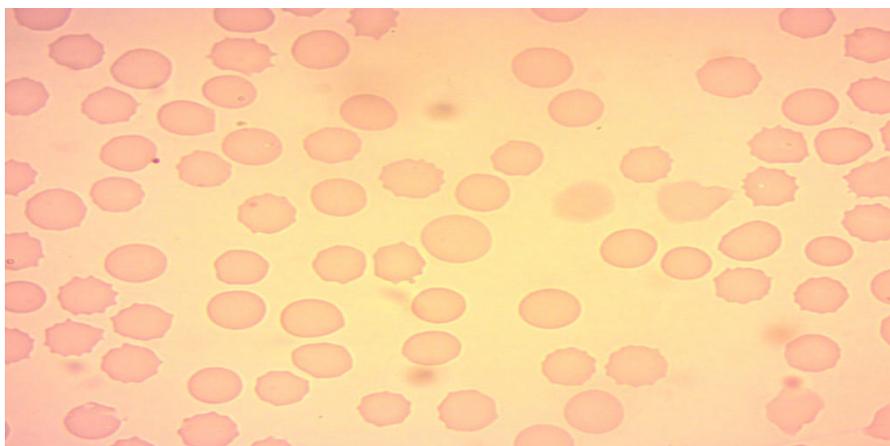
**Figure22** : Frottis sanguin d'un chien présentant de nombreux dacryocytes(fléche)**H&E,100X.**



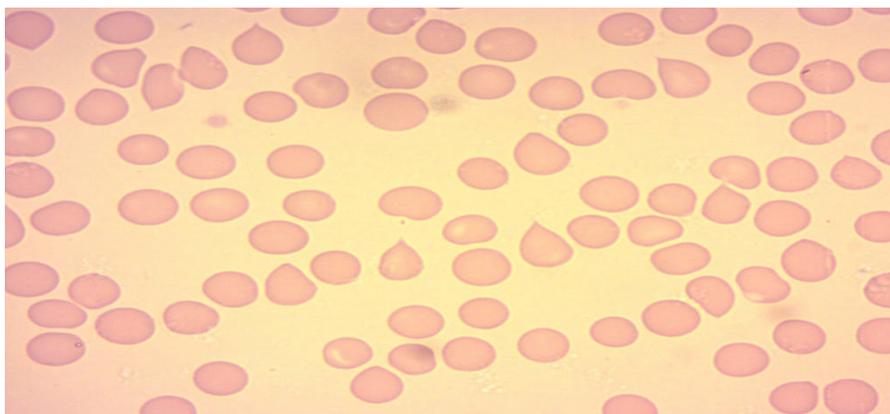
**Figure 23** : Frottis sanguin d'un chien présentant une anisocytose et poikilocytose associée à une thrombocytose, **H&E ,100X.**



**Figure 24 :** Frottis sanguin d'un chien présentant l'absence de paleurs centrale des érythrocytes et une thrombocytose. **H&E,100X.**



**Figure 25 :** Frottis sanguin d'un chien présentant une anisocytose **H&E,100X.**



**Figure 26 :** Frottis sanguin d'un chien présentant de différentes formes d'hématies (en trèfle en poire) **H&E ,100X**

### **III- discussion :**

Le tableau 05 montre les résultats de l'examen microscopique de 29 frottis sanguins de l'espèce canine. Ces résultats révèlent que l'anomalie la plus fréquente est la schyzocytose avec (58%) 17/29 frottis qui portent cette anomalie.

D'après **Jain** , la schyzocytose est une anomalie de fragmentation, elle est souvent occasionnée par une turbulence sanguine excessive en raison de trouble du flux sanguin (anémie hémolytique macroangiotique ) ; ou d'un important dépôt de fibrine au sein de la lumière des petits vaisseaux (anémie hémolytique microangiopatique).elle peut être aussi liée à une coagulation intra vasculaire disséminée ou une inflammation considérable des tissus très vascularisés (rate, foie, parenchyme pulmonaire et cortex rénale) (**Jain,1986**)

Cette fragmentation peut être occasionnée par des anomalies intrinsèques aux hématies (ex : carence en fer graves ou modérées). (**Jain, 1986**)

- Cependant 31% des frottis sanguins présentent des hématies en rouleaux, s'empilent l'une sur l'autre par modification de leur potentiel membranaire (qui normalement les repousse), selon **Jain** cette anomalie s'observe principalement aux cours de :

- Etat inflammatoire
- Dysglobulinémies (sauf myélome à chaîne légère)
- Grossesse parfois (liée à l'augmentation du fibrinogène)
- Artéfact lié aux solvants de certains médicaments IV (huile de castor, miconazole, ciclosporine) (**Jain, 1986**)
- D'autres lames présentent la poikilocytose par un pourcentage de 28%, exprime dans le sang la présence de globules rouges déformés qui peuvent parfois prendre une forme très irrégulière (poire, virgule, raquette...).

D'après **Latimer** et **Harvey** 2011 cette anomalie est liée à l'anémies et, plus particulièrement, dans les anémies mégaloblastiques, certaines anémies hémolytiques et à un degré marqué dans les myélofibroses. (**Latimer, 2011**), (**Harvey, 2011**)

- Cependant 8 lames présentent des dacryocytes, le mécanisme de formation de cette anomalie est lors de Déformation irréversible lors de la sortie d'une moelle de fibrose, ou origine splénique (temps de passage allongé dans la rate de gros volume. Selon **Jain** les dacryocytes s'observent principalement aux cours de :

- Myélofibroses (splénomégalie myéloïde, infiltration de la moelle par un cancer ou autre infiltration),
- Toutes les splénomégalias, quelle qu'en soit l'origine,
- Toutes les anémies très sévères (anémie par carence martiale très sévère, mégaloblastose par carence B12 ou folates, thalassémies majeures, parfois dysérythropoïèses congénitales).
- Anémies hémolytiques, parfois (à corps de Heinz). (**Jain, 1986**)

Tandis que 7 frottis sanguins présentent des hématies en cible d'après **Jain** cette anomalie est liée à :

- Ictère obstructif (avec VGM N ou augm.)
- Hémoglobinoses C homozygote (présence de quelque GR avec inclusions cristallines d'HbC) (avec VGM bas)
- Hémoglobinoses E homozygote (avec VGM bas)
- Drépanocytose homozygote (HbSS) (avec VGM normal)
- Autres hémoglobinoses : hétérozygotes composites HbS/HbC (parfois quelques GR avec inclusions cristallines d'HbC; avec VGM bas), hémoglobinoses D, hémoglobinoses O-arab homozygote
- Anomalies lipidiques : déficit congénital en LCAT (anémie, opacité cornéennes, néphrite, athérosclérose précoce, ...)

On a trouvé d'autres anomalies mais d'un nombre moins important tel que les hématies polychromatophiles, la macrocytose et l'hypochromasie (**Jain, 1986**)

### **III-7 Conclusion :**

D'après les résultats obtenues on peut conclure que les modifications des globules rouges quelconque résultent d'un problème pathologique ou d'un déséquilibre physiologiques (hormonales, fonctionnelle, circulatoire,...)

Donc, quel que soit la modification d'hématies c'est une interprétation de ce qui se déroule dans l'organisme du patient.

Le frottis sanguin a une grande importance dans l'évaluation de la santé du patient, il permet de déterminer la numération leucocytaire différentielle, et peut également fournir de nombreuses informations diagnostiques tel que la détection des anomalies de globules rouges, le taux normal ou anormal des plaquettes.

La préparation des frottis sanguins est une méthode très simple, moins onéreuse qui nous aide à donner un diagnostic précis.

Durant cette étude, la coloration MGG des frottis sanguins de chiens nous a permis de déterminer différentes anomalies des globules rouges, malgré le nombre relativement très faible des échantillons. Ceci montre bien que la réalisation et l'examen des frottis sanguins dans la clinique est indispensable ; même si l'animal ne présente aucun signe de pathologie du sang.

De part sa simplicité et sa faisabilité, les vétérinaires doivent adopter ce test en association avec toute consultation.

### **III-8 Résumé:**

L'examen du frottis sanguin est une méthode précise pour donner un diagnostic de certitude et de confirmation, et grâce à celui-ci on peut prescrire un traitement fiable. La coloration MGG des frottis sanguins des chiens a permis de détecter différentes anomalies des globules rouges, on a constaté durant ce travail que l'anomalie la plus fréquente est la schyzocytose ainsi que la poikilocytose ; et celle-ci est la conséquence de différentes pathologies. Certains frottis ont présenté des anomalies avec une faible fréquence tel que, l'anisocytose, hématies polychromatophiles, hématies en cible, hématies en rouleaux, et l'hypochromasie.

Il convient également de souligner que durant cette étude, plusieurs frottis ont présentés une association de plusieurs anomalies.

## Références Bibliographiques :

- Jain, N. C. (1986). Schalm'sveterinaryhematology (No. Edition 4). Lea&Febiger.
  - Hoffman, R., Benz Jr, E. J., Silberstein, L. E., Heslop, H., Anastasi, J., &Weitz, J. (2013). Hematology: basic principles and practice. Elsevier Health Sciences.
  - Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R., & Campbell, T. (Eds.). (2012). Veterinaryhematology and clinicalchemistry. John Wiley& Sons.
  - Latimer, K. S. (Ed.). (2011). Duncan and Prasse'sveterinarylaboratorymedicine: clinicalpathology. John Wiley& Sons.
  - Harvey, J. W. (2011). LIC-VeterinaryHematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas. Elsevier Health Sciences.
  - Timbrell, J. A. (1998). Biomarkers in toxicology. Toxicology, 129(1), 1-12.
- (2015). VeterinaryLaboratoryMedicine: Small and ExoticAnimals. Elsevier.
- Ettinger, S. J., Feldman, E. C., & Cote, E. (2017). Textbook of VeterinaryInternalMedicine-eBook. Elsevier health sciences.
  - Willard, M. D., Tvedten, H., &Turnwald, G. H. (1989). Small animal clinicaldiagnosis by laboratorymethods. WB Saunderscompany.
  - Lewandrowski, K. B., McAdam, A. J., Peerschke, E. I., & Pincus, M. R. (Eds.). (2015). VeterinaryLaboratoryMedicine: Small and ExoticAnimals. Elsevier.
  - Nelson, R. W., &Couto, C. G. (2014). Small Animal InternalMedicine-E-Book. Elsevier Health Sciences.
  - Moussa, Ndiaye. D. (2009). Etude de profil hématologique chez les chiens domestique à Dakar Sénégal. UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR.