

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 :

Variations hématologiques chez la brebis gestante

Présenté par :

Mébaraki Mansour

Messak Oum El Kheir

Encadre par :

Smail Fadhéla

CO-ENCADRE PAR:

Adda Fouzia

Année universitaire : 2018 – 2019

Remerciements

Je remercie, en premier lieu Allah pour m'avoir donné la force et la résolution pour réaliser ce travail

• *A mon encadreur Madame Smail Fadhela Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse, Et surtout, Pour m'avoir accueillie chaleureusement au sein de son laboratoire, pour sa patience, sa disponibilité et son aide incomparable et précieuse. Avec toute ma reconnaissance.*

• *A mon Co-encadreur Adda Fouzia Qui m'a aidés et guidés dans l'élaboration de ce travail. Pour sa disponibilité, le temps qu'il m'a consacré, son enseignement, ses conseils, sa sympathie et nos échanges, You are simply the best!*

• *A toute l'équipe Université Ibn Khaldoun - Institut des Sciences Vétérinaires Département de Santé Animale Laboratoire de Service d'Hématologie - Biochimie.*

• *Remerciements spécial A Responsable de Bergerie sanitaire de Institut Aourcie Djilali*

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon père el hadj Mébarki Abd El Salam, qui a toujours été le bon exemple pour moi, et qui m'a fourni l'aide et la confiance tout au long de mes études.

A ma mère, pour sa tendresse et ses encouragements illimités durant les moments difficiles.

A mes frères Aymen, Mohamed, Abd El Karim, Zakaria, Pousef, Khadija, A ma grande famille Mébarki.

A tous mes amis, pour toutes ces belles années. Même si la distance nous sépare, vous restez toujours dans mon cœur ! Tolba Hour El Houda , Adda Fouzia , Ahmed Selakh, Abdou Gasmi, Boukhalfa Hour , Messak Oum El Kheir, Ali Ziyani, Nacer Amadi, Hadjaj Khalifa , Boudia Amin , Benhmed Amine, Bouhenni Fouad.

A mes enseignants et mes collègues de l'institut vétérinaire.

#Mébarki_Mansour.



Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon père el hadj, Messak Sliman qui a toujours été le bon exemple pour moi, et qui m'a fourni l'aide et la confiance tout au long de mes études.

A ma mère, pour sa tendresse et ses encouragements illimités durant les moments difficiles.

*A mes frères, Mohamed, Ayoub, Fousef, Ghanem,
Sabrina abd el razak*

*A tous mes amis, pour toutes ces belles années. Même si la distance nous sépare, vous restez toujours dans mon cœur ! Mébarki
Mansour, Adda Fouzia, Mahdan Hanan, Snasli
Mouna, Ratoul Hadjer, Manhoudj Amira, Lazazi Amel,
Ben Grapa Fatima.*

A mes enseignants et mes collègues de l'institut vétérinaire.

#Messak_Dum_El_Their.



SOMMAIRE :

Introduction.....	11
Etude Bibliographique.	

- **CHAPITRE I : PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE LA BREBIS.**

Physiologie De La reproduction de la Brebis.....	14
1.1 Anatomie De L'appareil Génital De La Brebis.....	14
1.1.1 L'ovaire.....	15
1.1.2 L'oviducte.....	16
1.1.3 L'utérus.....	17
1.1.4 Le Vagin.....	18
1.1.5 La Vulve.....	18
1.2 Physiologie De La reproduction de la Brebis.....	19
1.2.1 Le Cycle Sexuel De La Brebis.....	19
1.2.2 Les Phases Du Cycle Sexuel.....	19
1.2.2.1 Le Pro œstrus.....	19
1.2.2.2 L'œstrus.....	19
1.2.2.3 Le Met œstrus.....	20
1.2.2.4 Le di œstrus.....	20

- **CHAPITRE II: PHYSIOLOGIE DE LA GESTATION CHEZ LA BREBIS.**

1. Physiologie De La Gestacion Chez La Brebis	23
1.1. Fécondation.....	23
1.1.1 Mise En Place De La Semence Mâle.....	23
1.1.1. a. Accouplement.....	23
1.1.1. b. Insémination Artificielle.....	23
1.1.2. Migration Des Gamètes Dans Les Voies Génitales Femelles.....	23
1.2. Gestation.....	24
1.2.1.1. La Vie Libre De L'œuf Fécondé.....	24
1.2.1.2. La Vie Embryonnaire.....	24
1.2.1.3.3. La Vie Fœtale.....	25
1.3. Mise-Bas.....	25

- **CHAPITRE III: LES METHODES DE DIAGNOSTIQUE.**

1. Les Méthodes De Diagnostique.....	27
1.1. Radiographie.....	27
1.2. Echographie.....	27
1.2. a. Doppler à Ultrasons.....	27
1.2. b. Echographie Unidimensionnelle (mode-A)	28
1.2. c. Echographie Bidimensionnelle (mode-B)	28
1.3. Palpation Abdominal.....	30
1.4. Détection Des Retours En Œstrus.....	30
1.5. Méthodes De Laboratoire.....	30
1.5.1. Dosage De La Progestérone.....	30
1.5.2. Dosage Du Sulfate D'œstrone.....	31
1.5.3. Hormone Lactogène Placentaire Ou Hormone Chorionique Somatomammotrope.....	32

- **CHAPITRE IV : LES ANALYSE HEMATOLOGYQUE.**

1. Introduction – Définition.....	34
1.1. Le Sang.....	34
1.2. L'hémogramme.....	34

2. Les Différents Paramètres De L'hémogramme.....	35
2.1. L'hémogramme Rouge.....	35
2.1.1. Globules Rouges.....	35
2.1.2. L'hématocrite.....	35
2.1.3. Numération Globulaire (NG)	35
2.1.3.1. L'hémoglobine.....	36
2.1.3.2..Le Volume Globulaire Moyen.....	36
2.1.3.3.La Teneur Corpusculaire Moyenne En Hémoglobine.....	37
2.1.3.4. La Concentration Corpusculaire Moyenne En Hémoglobine.....	37
2.1.3.5 L'indice De Répartition De La Taille Des Globules Rouges (IDR).....	37
2.2 L'hémogramme Blanc.....	37
2.2.1. Globules Blancs (leucocytes)	37
2.2.1.1. La Numération Leucocytaire.....	37
2.2.2. Les Polynucléaires (Les granulocytes)	38
2.2.2.1. Les Neutrophiles.....	38
2.2.2.2. Les Eosinophiles.....	38
2.2.2.3. Les Basophiles.....	39
2.2.3. Les Mononucléaires.....	40
2.2.3.1.Les Monocytes.....	40
2.2.3.2. Les Lymphocytes.....	41
2.2.3.2.1. Les Lymphocytes T.....	41
2.2.3.2.2. Les Lymphocytes B.....	41
2.3. L'hémogramme Plaquettaire.....	41
2.3.1 Les Plaquettes.....	41
2.3.2. La Numération Plaquettaire.....	42
2.3.3. Le Thrombocyte THT.....	42
2.3.4. Le Volume Plaquettaire Moyen VMP.....	42
2.3.5. Indice De Distribution Plaquettaire IDP.....	42
3. Technique De Hématologie Au Laboratoire.....	42
3.1. Le Prélèvement Sanguin.....	42
3.2. Réalisation Pratique.....	43
3.2.1. L'étude Quantitative.....	43
3.2.1.1. Les Compteurs D'hématologie Ou Automates D'hématologie.....	44
3.2.2. L'étude Qualitative : L'étude Morphologique Des Cellules Sur Frottis Sanguin Qui Permet En Outre D'établir La Formule Leucocytaire.....	45
3.2.2.2.1. Le Frottis Sanguin.....	45
3.2.2.2.1.1. Définition.....	45
3.2.2.2.1.2. Technique De Réalisation.....	45

• **V. PARTIE EXPERIMENTALE.**

Matériels Et Méthodes.....	52
1.. Animaux.....	52
2. Echantillon Du Sang.....	54
3. Matériels.....	54
3.1 Matériel De Prélèvement Sanguin.....	54
3.2 Matériel De Laboratoire.....	54
3.2.1. Matériel De Réalisation De Frotti Sanguins.....	54
3.3. Matériel De Lecture.....	54
3.4 Matériel De Numération Automatique.....	54
4. Méthodes.....	54
4.1.1 Analyse D'échantillon.....	54

4.1.1.1 Laboratoire D'analyse.....	54
4.1.1.2 Analyse Hématologique :(FNS)	55
4.1.1.3 Frotti Sanguine.....	55
2.1. Les Colorants.....	55
2.2. Préparation D'un Frottis Sanguin.....	56
2.3. Contrôle Du Frottis.....	57
2.4. Coloration Du Frottis.....	57
2.4.1. Principe De Coloration.....	57
2.4.2. Les Etapes De Coloration.....	57
5.Résultat Et Discussion.....	58
5.1 Description Et Comparaison Entre Les Paramètres Hématologique Des Femelles Gestantes Et Des Femelles Non Gestantes.....	60
6.Discussion.....	61
6.1 Caractérisation Des Animaux D'étude.....	61
6.2 Variations Hématologiques.....	61
6.2.1 Les Paramètres De Hémogrammes Rouge.....	61
6.2.2 1Les Paramètres De Hémogrammes Blanc.....	63
6.2.31Les Paramètres De Hémogrammes Plaquettaire.....	63
7.Conclusion Générales.....	63
7. Référence Bibliographiques.....	64

LISTE DES FIGURES :

- Figure 01 : Localisation de l'appareil reproducteur chez la brebis.
- Figure 02 : Système reproducteur de la brebis.
- Figure 03 : Coupe transversale d'un ovaire présentant différents stades de développement des follicules.
- Figure 04 : Col utérin de brebis.
- Figure 05 : Appareil génital de la brebis en vue externe.
- Figure 06 : Profil hormonal durant les différentes phases du cycle ovarien chez la brebis.
- Figure 07 : Migration de l'ovule et du jeune embryon de l'oviducte vers l'utérus au début de la gestation.
- Figure 08 : Période d'utilisation des différentes techniques d'examen échographique selon le stade de la gestation.
- Figure 09 : Les éléments figurés du sang.
- Figure 10 : Les globules rouges des Ovins.
- Figure 11 : Structure de l'hémoglobine.
- Figure 12 : Les cellules de la lignée blanche.
- Figure 13 : Aspect morphologique d'un polynucléaire neutrophile.
- Figure 14 : Aspect morphologique d'un polynucléaire éosinophile.
- Figure 15 : Aspect morphologique d'un polynucléaire basophile.
- Figure 16 : Aspect morphologique d'un monocyte.
- Figure 17 : Aspect morphologique d'un lymphocyte.
- Figure 18 : Aspect morphologique des plaquettes.
- Figure 19 : Tubes de prélèvement (EDTA).
- Figure 20 : Appareil pour la FNS (automate).
- Figure 21 : Schéma de la procédure de réalisation d'un frottis.
- Figure 22 : Représentation schématique d'un frottis sanguin sur une lame de verre.
- Figure 23 : Les trois méthodes de créneaux.
- Figure 24 : Exemples de frottis non acceptés, associés aux erreurs de réalisation les plus communes.
- Figure 25 : schéma récapitulatif de protocole expérimental.
- Figure 26 : Cheptel ovin.
- Figure 27 : réalisation d'analyse Hématologique (FNS).
- Figure 28 : réalisation de frotti sanguine.
- HISTOGRAMME 01 : HEMOGRAMME ROUGE.
- HISTOGRAMME 02 : HEMOGRAMME BLANC.
- HISTOGRAMME 03 : HEMOGRAMME PLEQUETTAIRE.

LISTE DES TABLEAUX :

- Tableau 01 : Liste du cheptel ovin.
- Tableau 02 : Les moyennes des paramètres hématologiques des femelles gestantes et femelles non gestantes.

LISTE DES ABREVIATIONS:

µl : microlitre.

µg: microgramme.

µg/l: microgramme par litre.

µm : micromètre.

µm³: micromètre cube.

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

EDTA : Acide éthylène diamine tétra acétique.

fl : femto litre.

Hb : l'hémoglobine.

Ht : l'hématocrite.

IDP : indice de distribution des plaquettes.

IDR : indice de distribution des rouges.

g : gramme.

GB : Leucocytes.

GR : globule rouge.

MGG : May-Grunewald-Giemsa.

ml : Millilitre.

NFs : numération formule sanguine.

NG : numération globulaire.

TCT : Thrombocrite.

TGMH : taux globulaire moyen en hemoglobin.

VGM : volume globulaire moyen .

VPM : volume plaquettaire moyen.

INTRODUCTION :

L'élevage ovin compte parmi les activités agricoles les plus traditionnelle et occupe une place très importante dans le domaine de la production animale et constitue le 1^{er} fournisseur de viande rouge du pays, cependant la production varie considérablement d'une région à l'autre en fonction des races, des systèmes d'élevage, des modalités de conduite des troupeaux et de l'environnement physique et socio-économique. (Bencherif, 2011).

Pour qu'un élevage rationnel des ovins réussisse nous devons maîtriser trois volets capitaux à savoir l'hygiène, l'alimentation et la reproduction.

L'importance sur le plan socio-économique : qui concerné l'alimentation et la reproduction :

1-l'alimentation joue un rôle prépondérant dans la maîtrise de la reproduction. Tout excès ou déficit en énergie, en azote, en minéraux et en oligo-éléments est préjudiciable aux performances de reproduction. (Safsaf, 2014). Elle doit être surveillée lors de croissance et d'engraissement des agneaux, en fin de gestation et en lactation des brebis, et surtout avant et pendant la période de lutte qui détermine les performances du troupeau. (BOUDEBZA ., 2015.).

Par définition l'alimentation : ce sont des calculs des besoins d'entretien de croissance et de production et de contrôle de la qualité de la ration qui couvre les besoins d'entretien au différent stade physiologiques. Donc l'alimentation est, d'une façon générale, l'un des principaux facteurs conditionnant la production animale. Ses effets peuvent se noter aussi bien sur la quantité que la qualité des produits animaux. (Caja et Gargouri, 1995).

La nutrition conditionne de manière fondamentale les performances des animaux en influençant les mécanismes de la reproduction, de la croissance, de la mortalité, de la santé et de la valeur commerciale des carcasses (Daghnoche, 2011).

La nutrition est considérée comme un facteur important affectant la fonction de reproduction chez les ruminants domestiques. Chez les ovins, elle affecte l'âge à la puberté, la fertilité, le taux d'ovulation et la survie de l'embryon. (Archa et al., 2009).

L'amélioration de l'alimentation et des conditions d'élevage permet de raccourcir de façon importante l'intervalle entre agnelage chez la brebis. Aussi l'alimentation bien conduit permet d'éviter les carences nuisibles à la reproduction, en effet des faibles performances de reproduction sont des manifestations d'un état nutritionnel déficient (Djalal, 2011).

2-la reproduction : qui est lié sur l'activité sexuelle de la brebis et les périodes de chaleur et les nouveaux nés et ce dernier est influencé par l'hygiène et l'alimentation.

-> Pour la femelle :

- L'âge de la puberté est de 6 mois, il est précoce pour certaines races et tardif pour d'autres.
- La durée des chaleurs est en moyenne 24 à 48 heures (il existe des variations en fonction de la race, de l'âge: les brebis adultes ont des chaleurs plus longues que les antenaises et les agnelles).
- L'âge au premier agnelage est de 10 à 12 mois
- L'âge à la réforme: de 5 à 9 ans. (Castonguay 2012).
- > Pour le mâle :
- L'âge de la puberté est de 6 à 8 mois.
- L'âge de la mise à la reproduction est de 12 mois.
- Fréquence d'utilisation pour la saillie ou pour la production de spermatozoïdes: plusieurs fois par jour.
- L'âge à la réforme: > 5 ans. (Castonguay 2012).

Sur le plan sanitaire :

L'hygiène résumant l'ensemble des mesures offensives et défensives, ainsi que le choix de la bonne thérapie qui touchant cette espèce, contre les maladies les plus fréquentes tel que l'enterotoxémie (pour les brebis pleines au dernier mois de gestation et pour les agneaux à leur deuxième semaine d'âge).

1. Déparasitage interne et externe.
2. Pour les brebis laitières, il faut :
 - o Nettoyer et sécher la mamelle avec un papier à usage unique.
 - o Éliminer les 1ers jets.
 - o Tremper les trayons à la fin de la traite.
 - o Lavage et nettoyage après chaque opération.

Au cours de ces dernières années les impératifs d'une meilleure maîtrise de la reproduction afin d'augmenter la rentabilité, des troupeaux ovins ont conduit éleveurs et chercheurs à s'intéresser de plus près de différentes méthodes de diagnostic de gestation. La caractérisation hématologique et biochimique des animaux est d'un intérêt particulier pour établir le diagnostic de gestation. Le prélèvement sanguin est une source très riche des informations sur le sujet étudié et dans le cas d'une brebis gestante on prend en considération les variations hématologiques.

Ce dernier est une méthode très importante qui permet de connaître l'état de gestation chez la brebis pour obtenir des résultats qui sont positifs ou négatifs ce qui permet de savoir l'état de sujet.

L'objectif :

Notre principal objectif, dans cette étude est de comprendre le mécanisme de l'activité sexuelle de la brebis afin de trouver des solutions pour obtenir un élevage rationnel productif et des moyens adéquats pour l'amélioration de notre cheptel ovin.

CHAPITRE I: PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE LA BREBIS

1. PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE LA BREBIS :

La connaissance de la physiologie sexuelle est indispensable à la compréhension des facteurs responsables des variations des performances de reproduction, c'est pourquoi il nous a paru opportun d'étudier l'activité sexuelle de la brebis depuis son anatomie en passant par le cycle sexuel jusqu'à la gestation-parturition.

1.1. Anatomie de l'appareil génital de la brebis :

L'utilisation des différentes méthodes de diagnostic de gestation chez la brebis nécessite au préalable une bonne connaissance de l'anatomie de l'appareil reproducteur ainsi que de la physiologie de la reproduction et de la gestation chez cette espèce.

L'appareil génital de la brebis est situé dans la partie caudale de la cavité abdominale. (Castonguay 2012). (Figure 1). Il est composé en six parties principales : la vulve, le vagin, le col de l'utérus, l'utérus, l'oviducte et les ovaires. (KHIATI, 2013).

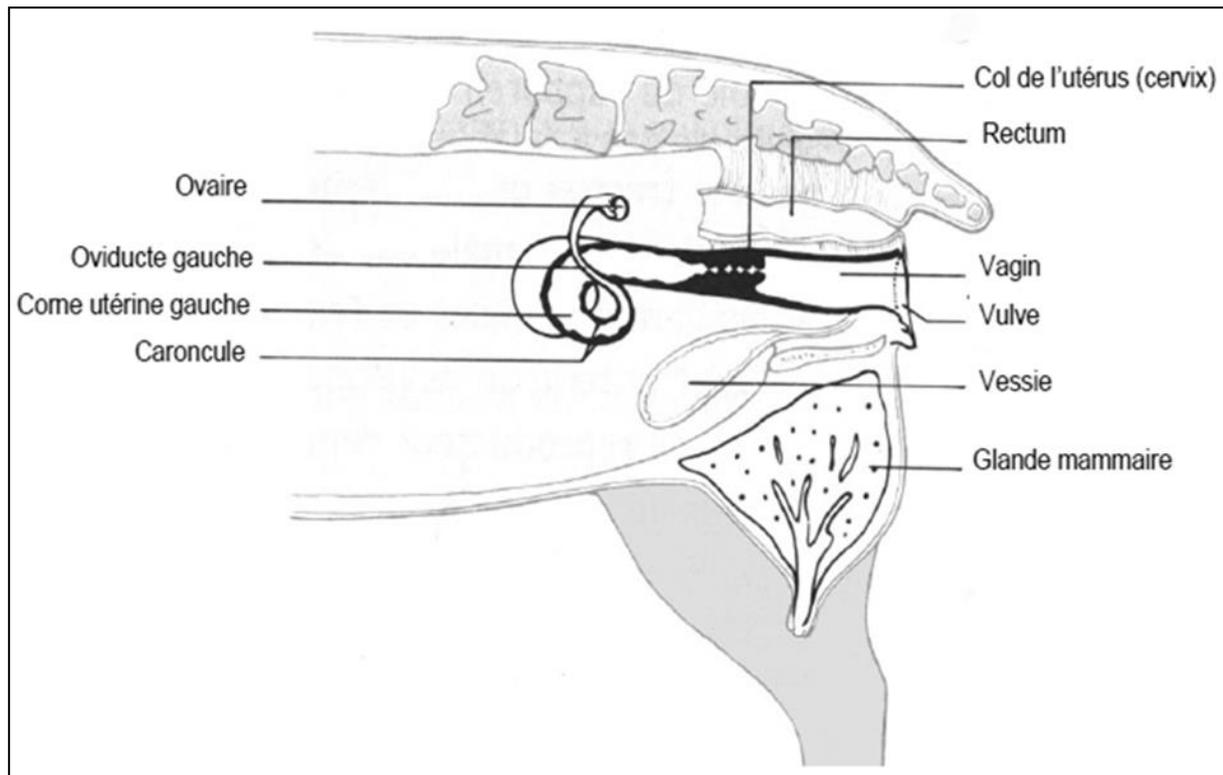


Figure 01 : Localisation de l'appareil reproducteur chez la brebis (Bonnes et al. 1988).

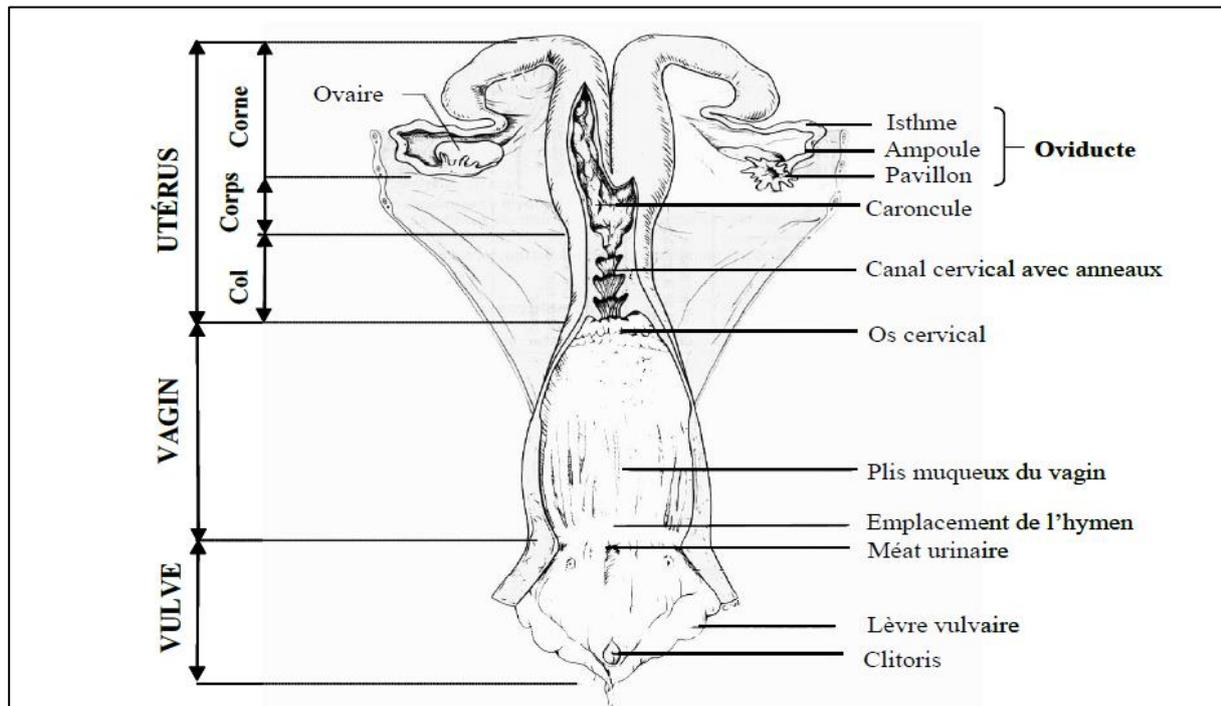


Figure 02 : Système reproducteur de la brebis (Bonnes et al., 1988).

1.1.1.L'ovaire :

Chez la brebis, les ovaires sont de petits organes en forme d'amande (2 cm de longueur x 1 cm d'épaisseur) et sont aplatis, dont le poids varie en fonction de l'activité ovarienne. (Castonguay 2012). Il existe dans l'épaisseur du ligament large, au contact de l'ovaire et entre celui-ci et le pavillon de l'oviducte, un vestige du corps de Wolff : l'organe de Rosenmüller. Sur chaque ovaire on distingue des bosselures plus ou moins apparentes qui sont des follicules à différents stades d'évolution. (MICHAUD, 2006). Chaque femelle possède deux ovaires qui ont pour fonctions de produire les gamètes femelles (ovules) ainsi que certaines hormones sexuelles femelles, principalement la progestérone et les œstrogènes, qui maintiennent les caractéristiques sexuelles et contrôlent partiellement plusieurs fonctions de reproduction. (Castonguay 2012).

Le poids individuel de chaque ovaire dépend de la saison et du moment du cycle œstrien : il est compris entre 3 et 5g . L'ovaire, est composé de deux tissus distincts comme chez les autres ruminants. (MICHAUD, 2006).

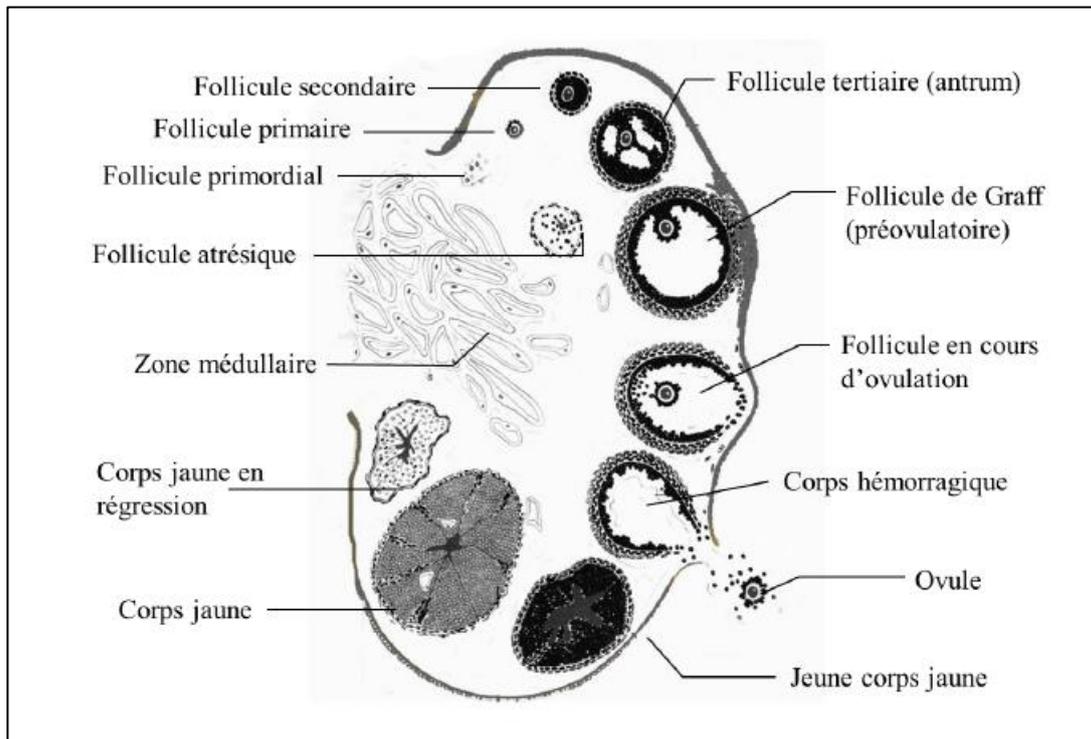


Figure 03 : Coupe transversale d'un ovaire présentant différents stades de développement des follicules (Bonnes et al., 1988).

1.1.2.L'oviducte :

Les oviductes sont de petits tubules pairs d'une longueur de 10 à 20 cm . chez la brebis il est sous forme d'un tube circonvolutionné, prolongeant les cornes utérines et se terminant par une sorte d'entonnoir, constitué du pavillon, de l'ampoule et de l'isthme. (Castonguay 2012).

- le pavillon en forme d'entonnoir, a une surface d'environ 6-10 cm². L'ouverture du pavillon est rattachée en un seul point central à l'ovaire. Le pavillon recouvre partiellement l'ovaire et capte les ovules provenant des ovaires lors de l'ovulation pour les entraîner, grâce à la présence de cils et à l'aide de contractions musculaires, dans les oviductes, site de la fécondation. Par la suite, le nouvel embryon formé se déplace vers l'utérus, où se poursuit la gestation.
- l'ampoule est la partie la plus longue et la plus large de l'oviducte où se produit la fécondation.
- l'isthme, court et étroit est directement relié à l'utérus par la jonction utéro-tubaire. (MICHAUD, 2006).

1.1.3.L'utérus :

L'utérus constitue l'organe de la gestation et son rôle est d'assurer le développement du fœtus par ses fonctions nutritionnelles et protectrices. (Castonguay 2012).

L'utérus est de type bipartitus, c'est-à-dire qu'il est composé d'un corps court et de deux longues cornes. (BAUDET A., 2017). Il est fait de trois parties :

les deux *cornes utérines* dont chacune a entre 10 et 15cm de long ;

le corps utérin: 1 à 2 cm de long ;

le cervix ou col de l'utérus: 4-10cm de long et 2-3 cm de diamètre ; chez la brebis, la partie interne du col de l'utérus (endocol) dessine des replis nombreux et profonds, qui s'enfoncent jusqu'à la base de muscles circulaires (**Figure 4**). Le canal cervical proprement dit est donc très sinueux et impossible à franchir lors de l'I.A. par voie transcervicale. C'est pourquoi chez les ovins la quasi-totalité des femelles est inséminée par voie exocervicale ; l'insémination intra-utérine par laparoscopie est plus rare mais permet de détourner cette anatomie capricieuse. (MICHAUD, 2006).

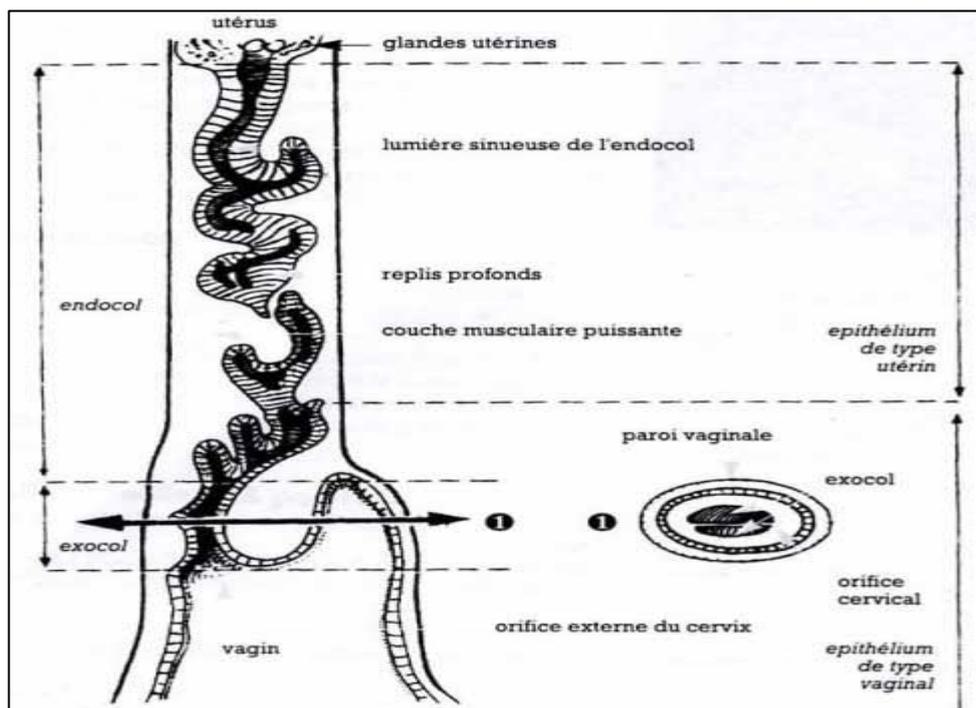


Figure 04 : Col utérin de brebis. (COGNIE et al.).

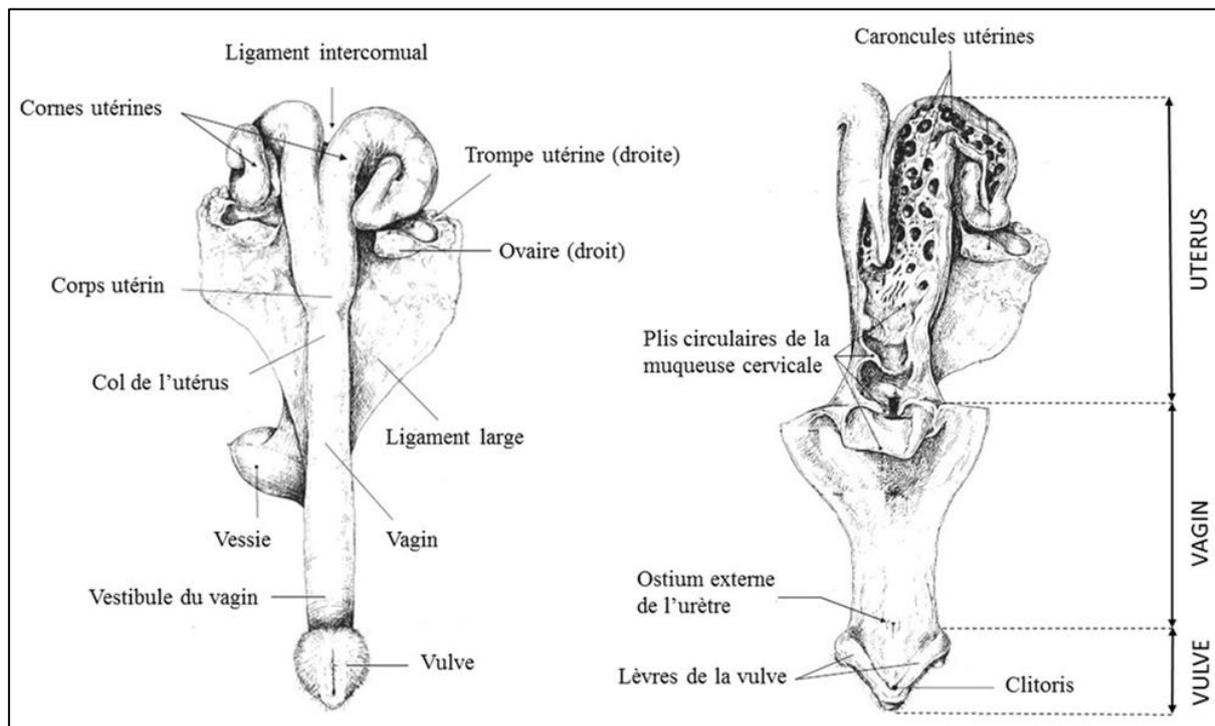


Figure 05 : Appareil génital de la brebis en vue externe (à gauche) et en vue interne (à droite) (BAUDET ., 2017.)

1.1.4. Le vagin :

Avec une longueur de 10 à 14 cm, le vagin constitue l'organe de l'accouplement. Son apparence intérieure change en fonction du stade du cycle sexuel. (Castonguay 2012). Lorsqu'une brebis est en chaleur, le vagin contient un fluide plus au moins visqueux, sécrété par le col de l'utérus, et sa muqueuse prend une coloration rougeâtre, causée par l'augmentation de l'irrigation sanguine. (KHIATI, 2013).

Lors de la saillie c'est l'endroit où la semence est déposée. Le vagin est très irrigué et très sensible, Les brebis dont le vagin est plutôt sec et couleur pâle ne sont probablement pas en chaleur. Ce phénomène peut facilement être observé lors des inséminations. Chez l'agnelle, une mince membrane obstrue partiellement le vagin, l'hymen, qui est perforé lors du premier accouplement. (Castonguay 2012).

1.1.5. La vulve :

La vulve est la partie commune aux systèmes reproducteur et urinaire. (Castonguay 2012). On peut distinguer l'orifice externe de l'urètre provenant de la vessie s'ouvrant dans la partie ventrale, qui marque la jonction entre la vulve et le vagin. Les lèvres et un clitoris très court constituent les autres parties de la vulve. (KHIATI, 2013).

Physiologie de la reproduction de la brebis :

La brebis est une espèce poly œstrienne saisonnière à « jours courts » et à ovulation spontanée. Il est important de connaître ces particularités propres à cette espèce concernant la reproduction afin d'améliorer les performances reproductives et donc la rentabilité d'un troupeau.

1.2.1 Le cycle sexuel de la brebis :

Le cycle sexuel est défini comme l'ensemble des modifications périodiques, structurales, morphologiques et fonctionnelles des organes génitaux et des glandes annexes accompagnées de variations de comportement de la femelle. Il dépend de l'activité de l'ovaire, lui-même tributaire de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Il dure en moyenne 17 jours chez la brebis avec des extrêmes de 14 et 21 jours. (MICHAUD, 2006).

Les cycles sexuels démarrent à la puberté. Généralement, les agnelles atteignent la puberté au bout de 6 à 8 mois d'âge, (KHIATI, 2013). mais cet âge est considérablement influencé par la race, l'alimentation, les facteurs environnementaux ; la puberté se manifeste lorsque les animaux ont atteint 40 à 50 % du poids corporel. Ainsi les agnelles issues de races ovines à croissance rapide (KHIATI, 2013).

1.2.2. Les phases du cycle sexuel :

Chez les espèces à ovulation spontanée auxquelles appartient la brebis, classiquement le cycle sexuel est divisé en quatre périodes correspondant aux différentes phases de l'activité ovarienne : le pro-œstrus, l'œstrus, le post-œstrus et le di-œstrus. (Castonguay 2012).

1.2.2.1. Le pro-œstrus :

C'est une phase de croissance accélérée et finale du follicule ; elle dure en moyenne 2 à 3 jours chez la brebis. Pendant le pro-œstrus l'endomètre utérin est œdémateux avec une surface de hautes cellules en colonne ; on peut constater un écoulement vaginal contenant un mucus épais avec des leucocytes et des cellules épithéliales . (MICHAUD, 2006).

1.2.2.2. L'œstrus :

L'œstrus ou chaleurs, est la phase de maturation et de déhiscence du follicule, donc de ponte ovulaire. La connaissance de cette phase est primordiale car elle correspond à une période optimale pour une saillie naturelle ou contrôlée. (BAUDET A., 2017).

Chez la brebis les chaleurs durent de 24 à 72 heures avec une moyenne de 35 heures et se manifestent en plus grand nombre de minuit à midi que de midi à minuit ; les signes physiques

de l'œstrus, sont relativement peu perceptibles par suite de la faible vascularisation et de la tuméfaction réduite des organes génitaux externes : la vulve est légèrement tuméfiée et laisse s'écouler une petite quantité de liquide glaireux. La femelle peut ne pas montrer de comportement spécial en dehors de la présence du bélier, c'est pourquoi lorsqu'on veut être sûr de la réalité de l'œstrus, il faut placer la brebis en présence du mâle et si elle est en chaleurs, elle accepte la saillie. (MICHAUD, 2006).

1.2.2.3.Le met-œstrus :

C'est la phase de formation du corps jaune et le début de son activité sécrétoire. Chez la brebis, sa durée est d'environ 2 jours. Pendant le met-œstrus, l'écoulement vulvaire devient important et caséeux avec abondance de cellules épithéliales squameuses et seulement la présence de quelques leucocytes ; il y a un développement considérable de glandes et une kératinisation très marquée.

1.2.2.4.Le di-œstrus :

Il correspond à la phase de plein fonctionnement et de dégénérescence du corps jaune ou lutéolyse ; sa durée varie entre 8 et 13 jours chez la brebis . (MICHAUD, 2006).

Si le di-œstrus se prolonge, il devient un anœstrus qui peut être saisonnier, de gestation ou de lactation. L'anœstrus saisonnier se rencontre du début de l'hiver à la fin du printemps (lorsque la durée du jour augmente). La durée et l'intensité de l'anœstrus varient d'une race à l'autre : certaines races présentent quelques chaleurs au printemps, tandis que d'autres ont une saison sexuelle très courte : d'août à décembre. (Castonguay 2012).

D'une manière générale, nous distinguons deux phases au cours du cycle sexuel, en fonction des modifications cellulaires au niveau de l'ovaire :

1. Une phase folliculaire caractérisée par la croissance finale et brutale des follicules ; elle est, chez les mammifères domestiques et contrairement à ce que nous observons chez la femme ou les primates d'une façon générale, très courte, de l'ordre de 2 à 3 jours chez la brebis. Sur le plan hormonal, cette phase est une phase oestrogénique.
2. Une phase lutéale qui est plus longue que la précédente, (13 à 14jours) ; elle est caractérisée par l'évolution du corps jaune qui se développe, se maintient et se lyse très rapidement ; sur le plan hormonal cette phase est progestéronique. (MICHAUD, 2006).

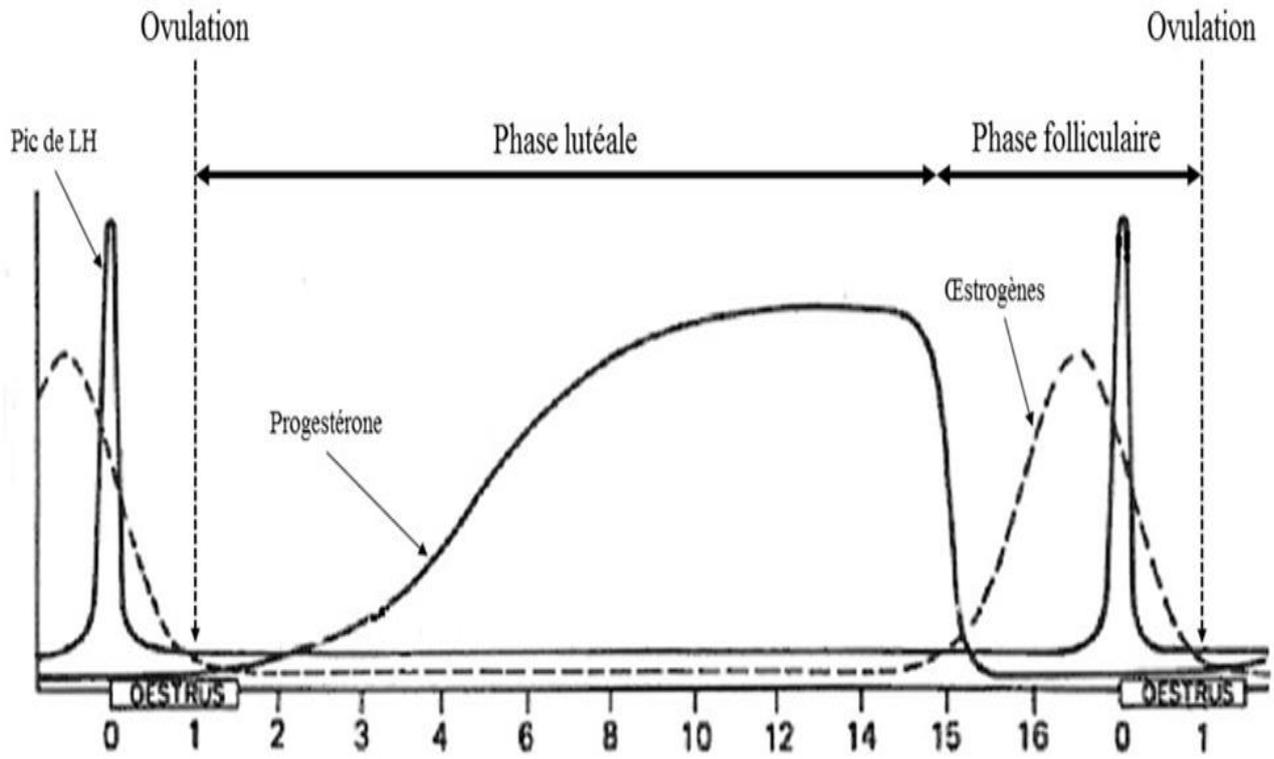


Figure 06 : Profil hormonal durant les différentes phases du cycle ovarien chez la brebis (Castonguay 2012).

CHAPITRE I: PHYSIOLOGIE DE LA GESTATION CHEZ LA BREBIS

1. Physiologie de la gestation chez la brebis :

La gestation correspond à la période entre la fécondation et la mise-bas environ 5 mois (140 à 159 jours) (Labussiere, 1990). qui varie selon : la race (la durée varie entre 8 à 10 jours) (Dudouet, 1996). la gestation se définit comme l'ensemble des processus qui se déroulent de la fécondation à la parturition. (MICHAUD, 2006).

1.1. Fécondation :

La fécondation correspond à la fusion des gamètes mâle (spermatozoïde) et femelle (ovocyte) aboutissant à la formation d'une cellule unique : l'œuf ou zygote. Cet œuf va subir très rapidement des divisions cellulaires, on parle alors d'embryon. Chez les mammifères, la fécondation a lieu dans l'ampoule de l'oviducte.). (Montmeas et al. 2013).

❖ 1.1.1. Mise en place de la semence mâle

La fécondation nécessite au préalable la libération de l'ovocyte et le dépôt des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles soit de manière naturelle par accouplement, soit par insémination artificielle (IA). (Montmeas et al. 2013).

1.1.1.a. Accouplement

Lorsque la femelle est en œstrus, elle s'immobilise en présence d'un mâle et accepte le chevauchement. Lors de l'accouplement, aussi appelé lutte chez les ovins, l'éjaculation par le bélier permet le dépôt des spermatozoïdes dans le vagin contre le col de l'utérus (Montmeas et al. 2013).

1.1.1.b. Insémination artificielle

L'insémination artificielle (IA) consiste à récolter la semence mâle puis à la déposer dans les voies génitales femelles, sans qu'il y ait accouplement (Montmeas et al. 2013).

1.1.2. Migration des gamètes dans les voies génitales femelles :

Chez les ovins, la migration des spermatozoïdes jusqu'au lieu de fécondation dure environ 9h et le maintien de leur pouvoir fécondant dans les voies génitales femelles est de 30 à 48h. Chez la brebis, l'ovulation se produit environ 32h après le début des chaleurs et l'ovocyte reste apte à être fécondé pendant 16 à 24h après l'ovulation (Montmeas et al. 2013). La durée de survie des gamètes dans le tractus génital femelle étant relativement courte, soit entre 10 et 20 jours. (Castonguay 2012). il faut contrôler le moment de l'ovulation et du dépôt de la semence mâle pour qu'il y ait fécondation, notamment lorsqu'on utilise l'insémination artificielle. (MICHAUD, 2006).

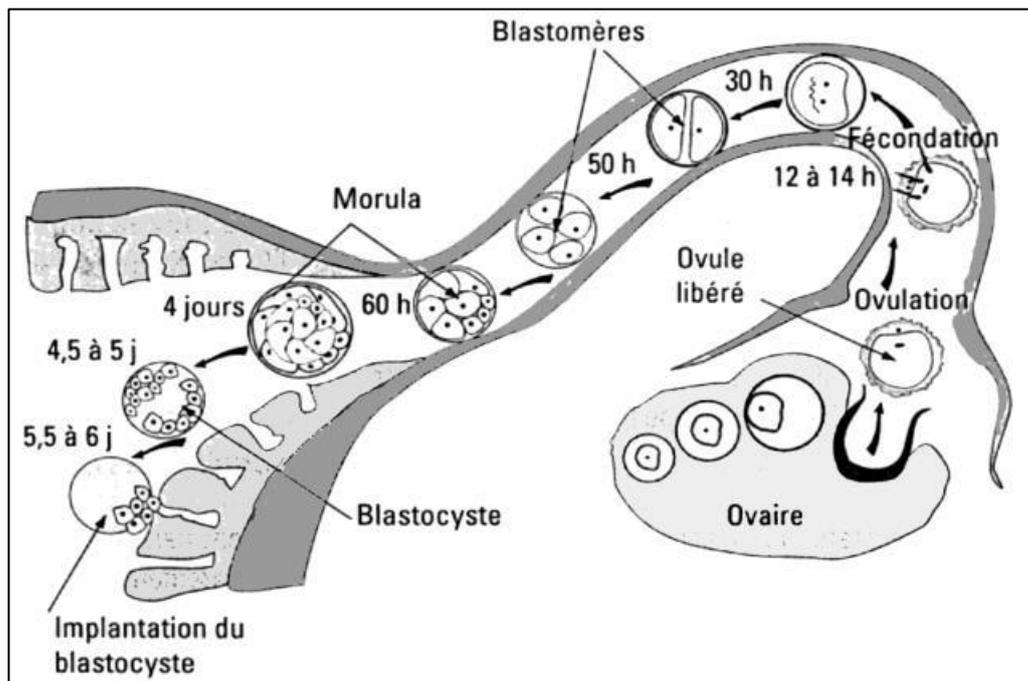


Figure 07 : Migration de l'ovule et du jeune embryon de l'oviducte vers l'utérus au début de la gestation (Brice et al., 1995).

1.2.Gestation :

Chez la brebis, la durée de la gestation est en moyenne de 150 jours, c'est-à-dire environ 5 mois. (Labussiere, 1990). Cependant, cette durée est variable selon la race, l'individu, la taille de la portée et l'âge de la mère. (Dudouet, 1996). Chez la brebis, la durée de gestation est plus courte en cas de gémellité et chez les primipares. (Castonguay 2012). Une fois que la fécondation de l'ovocyte par un spermatozoïde a eu lieu dans l'oviducte, l'embryon ainsi formé migre vers l'utérus. Elle peut se diviser en trois périodes : la vie libre de l'œuf, la vie embryonnaire et enfin la vie fœtale. (BAUDET A., 2017).

1.2.1.1.La vie libre de l'œuf fécondé :

Elle correspond à la période de migration de l'œuf vers l'utérus ou encore progestation ; après la fécondation, l'ovocyte commence la mitose, tout en descendant le long de la trompe, conduisant à la formation de l'embryon qui porte le nom de blastocyste avant sa fixation sur la paroi utérine (schéma 6). S'il y a plusieurs œufs fécondés, ils s'espacent de sorte que, même venant du même ovaire ils sont écartés les uns des autres. (Castonguay 2012).

1.2.1.2.La vie embryonnaire :

L'œuf fécondé s'implante dans la paroi utérine dans 15 jours suivant la fécondation (10-20 jours). (Castonguay 2012). ; c'est le phénomène de la nidation. A partir de ce moment, s'élaborent des feuillettes qui donneront d'une part les organes du fœtus et d'autre part les enveloppes fœtales (amnios, allantoïde et le chorion). (MICHAUD, 2006).

En cas de gestation multiple, le chorion est commun mais l'anastomose des réseaux sanguins des deux foetus est très rare (bien que les enveloppes soient capables de fusionner) ce qui explique l'indépendance biologique des deux foetus : les agnelles jumelles d'agneau mâle sont fécondes et n'ont pas reçu d'hormones mâles pendant leur développement utérin contrairement à ce qui se passe chez les free-martin des bovins. La circulation entre le foetus et le placenta se fait par le cordon ombilical, les échanges entre la mère et le placenta se font au niveau des cotylédons par voie capillaire. (MICHAUD, 2006).

1.2.1.3.3. La vie fœtale :

Le foetus après croissance et développement donnera un agneau prêt à naître. La vie fœtale est la plus longue de toutes les trois phases. Elle est marquée par une croissance très rapide au départ et un ralentissement à la fin de la gestation. (MICHAUD, 2006). Mais le développement du foetus est fonction de nombreux facteurs tels que le format de la mère, (Castonguay 2012). le niveau énergétique de la ration, la taille de la portée. Chez les espèces dites polytociques portant plusieurs produits lors de chaque gestation, l'augmentation de la taille de la portée, réduit le poids de chaque foetus. (MICHAUD, 2006).

1.3. Mise-bas :

La mise-bas, ou parturition, marque la fin de la gestation et correspond à l'ensemble des phénomènes aboutissant à l'expulsion du ou des foetus et de leurs annexes. (Castonguay 2012). Elle comporte trois phases. Tout d'abord, on observe une phase préparatoire pendant laquelle la brebis manifeste des prodromes tels que de l'agitation, un isolement, un gonflement de la vulve, etc. (ARBOUCHE., 2011). Puis a lieu une phase de dilatation du col de l'utérus associée à l'avancée des poches des eaux qui finissent par se rompre. (MICHAUD, 2006). (ces deux phases durent environ 16 heures). (ARBOUCHE., 2011). Enfin, une phase d'expulsion du ou des foetus se déroule sous l'effet des contractions utérines et abdominales facilitée par le pouvoir lubrifiant du liquide amniotique. (MICHAUD, 2006). Le cordon ombilical se rompt lors de l'expulsion de l'agneau. (ARBOUCHE., 2011). Chez la brebis, lors de la majorité des mises-bas normales, le foetus est en présentation antérieure et en position dorso-sacrée. Son expulsion dure en moyenne entre 10 et 20 minutes. L'expulsion des annexes fœtales, aussi appelée délivrance, a lieu en moyenne une à trois heures après la naissance du dernier agneau. (Castonguay 2012).

Chapitre III : LES METHODES DE DIAGNOSTIQUE

1. LES METHODES DE DIAGNOSTIQUE :

Le diagnostic précoce de gestation a une grande importance économique pour l'éleveur. En effet, il permet de détecter le plus tôt possible les femelles non gravides afin, soit de les remettre rapidement à la reproduction, soit de les réformer de manière raisonnée et ainsi de limiter les pertes économiques liées à l'alimentation d'animaux non productifs.

Le constat de gestation qu'il soit réalisé en recourant à des méthodes manuelles, hormonales ou échographiques constitue une démarche essentielle pour prévenir l'infécondité. (EL AMIRI et al., 2003).

Il existe différentes techniques de diagnostic de gestation. les méthodes hormonales (progestérone et PAG) et non hormonales (palpation manuelle, détection de l'œstrus, inspection de l'abdomen, développement mammaire) pour confirmer la gestation chez les petits ruminants. (BAUDET A., 2017).

1.1.Radiographie :

Le diagnostic de gestation et le dénombrement des foetus peuvent être réalisés avec succès par radiographie avec une qualité de clichés qui dépend de l'appareil, de la contention de l'animal et du centrage des rayons X. D'une manière générale, (EL AMIRI et al., 2003). le diagnostic de gestation peut s'établir à partir du 3e mois de gestation. La méthode radiologique permet de diagnostiquer la gestation et de déterminer le nombre des produits à naître avec une exactitude élevée à partir du 70e jour après la fécondation. (BAUDET A., 2017). Malheureusement, cette précision est assortie d'un certain nombre d'inconvénients qui ont limité l'extension d'utilisation de la méthode. Etant donné la sophistication de l'appareillage, son coût élevé et surtout le risque d'irradiation de l'animal et du manipulateur, elle ne peut être pratiquée à grande échelle dans le domaine de l'élevage ovin. (Kharche, Kouamo 2015). Cette méthode reste peu utilisée en pratique, si ce n'est dans des protocoles expérimentaux particuliers impliquant un suivi de la gestation. (EL AMIRI et al., 2003).

1.2.L'échographie :

C'est la méthode la plus fiable rapide et facile à réaliser pour la confirmation de gestation, Trois systèmes différents d'échographie ont été employés chez les petits ruminants.

1.2.a. Doppler à ultrasons :

Le principe du Doppler à ultrasons fut appliqué dès les années 70 dans le cadre du diagnostic de gestation. Cette méthode est basée sur la détection d'ultrasons émis par une source fixe et réfléchis par tout obstacle mobile tel que le cœur ou le flux sanguin, ce qui permet de détecter les battements cardiaques et les mouvements fœtaux, ou bien le flux sanguin dans les artères placentaires. Cet examen peut se faire par voie transabdominale ou transrectale. (EL AMIRI et al., 2003).

A ce jour, le Doppler à ultrasons a été abandonné au profit de l'échographie bidimensionnelle (mode-B) en ce qui concerne le diagnostic de gestation. Cependant cette méthode peut être intéressante pour le suivi de la viabilité du fœtus au cours de la gestation. (BAUDET A., 2017).

1.1.b. Echographie unidimensionnelle (mode-A) :

Appelé échoscopie (mode-A), l'appareil émet un son et éventuellement un signal lumineux lorsque le faisceau d'ultrasons rencontre une poche de liquide. L'opérateur doit évaluer si ce signal correspond bien, selon l'orientation, au liquide amniotique. (EL AMIRI et al., 2003).

Les échos produits par ces interfaces sont traduits sur l'écran d'un oscilloscope par des pics dont la position et l'amplitude reflètent, respectivement, la profondeur et la réflectivité de l'interface. Dans une étude menée chez des brebis à partir du 51ème jour de gestation jusqu'à la mise-bas, la sensibilité et la spécificité de cette méthode varient, respectivement, de 97,2 à 97,7% et de 86,9 à 96,3% selon l'appareil utilisé (Watt et al. 1984).

Le diagnostic de gestation par échographie unidimensionnelle (mode-A) peut entraîner des erreurs car il est basé sur la détection du liquide amniotique qui, durant les premiers stades de la gestation, peut être confondu avec l'urine contenue dans la vessie ou bien avec la présence pathologique de liquide dans l'utérus. (Ganaie et al. 2009).

De plus, cette méthode ne permet pas d'établir un diagnostic précoce, ni de déterminer le nombre de fœtus ou leur viabilité. Tout cela a conduit à son abandon au profit de l'échographie mode-B.

1.1.c. Echographie bidimensionnelle (mode-B) :

Cette technique fait appel à un échographe fonctionnant en mode-B en temps réel, appelé aussi échotomographie. (EL AMIRI et al., 2003). L'opérateur visualise sur un écran une image bidimensionnelle en coupe résultant de la juxtaposition de points lumineux, dont la brillance varie selon la réflectivité (ou échogénicité) des différentes structures traversées par les ultrasons. Cela permet de distinguer l'embryon ou le fœtus au sein de l'utérus maternel. L'image obtenue en nuances de gris dépend de l'échogénicité des tissus observés. Les liquides sont anéchogènes et apparaissent donc en noir à l'écran. A l'inverse, les os et autres éléments calcifiés sont hyperéchogènes et apparaissent en blanc sur l'image. Entre les deux, l'échogénicité des différents tissus est variables et se décline en différentes nuances de gris (Gonzalez- Bulnes et al. 2010).

. L'échographie par voie transabdominale peut être utilisée pour diagnostiquer une gestation entre le 30ème jour et un peu après le 100ème jour de gestation. Mais sur le terrain, la période optimale se situe entre le 45ème et le 85ème jour (Figure 08). Lors de diagnostics précoces de gestation, il est important de se rappeler que des cas de mortalités embryonnaires peuvent entraîner des faux positifs (Descôteaux et al. 2009).

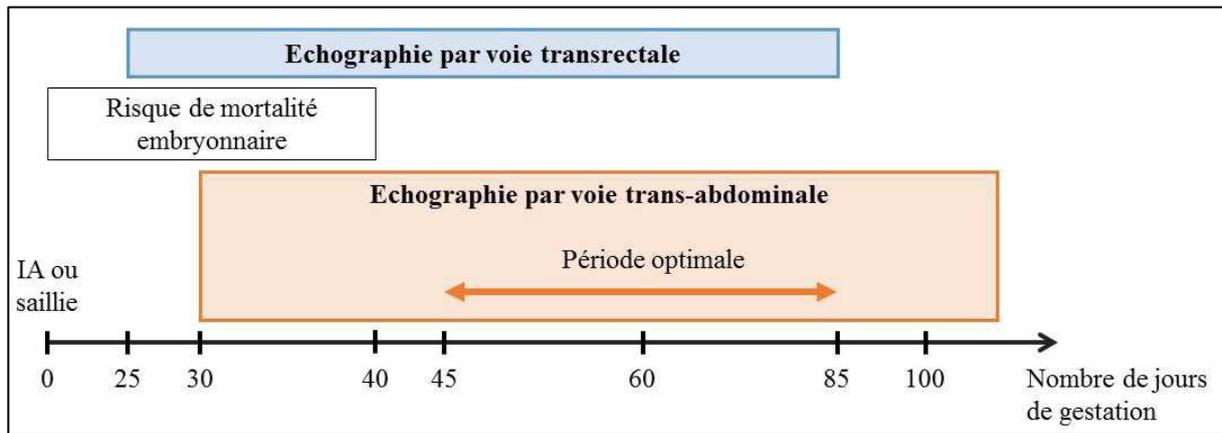


Figure 08 : Période d'utilisation des différentes techniques d'examen échographique selon le stade de la gestation.(BAUDET A., 2017).

L'échographie en mode-B peut donc être réalisée soit par voie transabdominale (sondes de 3 à 5 MHz) soit par voie transrectale (sondes de 5 à 7,5 MHz). Cependant en pratique, l'abord transabdominale est préféré à la voie transrectale pour la réalisation des échographies dans les élevages. En effet, l'échographie mode-B en temps réel par voie transabdominale est la principale méthode de diagnostic de gestation chez les petits ruminants. Elle peut être réalisée dès le 30ème jour de gestation si le manipulateur est expérimenté. On utilise une sonde linéaire ou sectorielle dont la fréquence varie de 5 à 7,5 MHz. La brebis est soit assise soit debout et on réalise l'échographie par voie transabdominale au niveau de la mamelle ou dans le pli de l'aîne. En tant que test de diagnostic de gestation, l'échographie présente plusieurs avantages. Tout d'abord, elle donne un résultat immédiat à l'éleveur sur l'état gravide ou non de l'animal. Ensuite, elle permet potentiellement de dénombrer les foetus présents dans l'utérus, d'estimer le stade de la gestation, de déterminer éventuellement le sexe des foetus et de mettre en évidence leur viabilité (BAUDET A., 2017).

Le coût élevé et la fragilité de l'appareil sont les principales limites de cette méthode. (EL AMIRI et al., 2003). De plus, la fiabilité du diagnostic de gestation dépend beaucoup de l'expérience du manipulateur. La variabilité des résultats obtenus lors du diagnostic de gestation par échographie est probablement due à la voie d'abord utilisée pour réaliser l'examen, à la fréquence des sondes échographiques utilisées et à l'expérience du manipulateur (Karen et al. 2001). Néanmoins, l'échographie en mode-B est, à ce jour, largement utilisée aussi bien en routine sur le terrain que dans des centres de recherche. Bien qu'elle nécessite un matériel coûteux et un manipulateur expérimenté, la rapidité et la fiabilité de cet examen justifie sa large utilisation dans les élevages. De plus, il existe aujourd'hui des échographes portables fonctionnant sur batterie, présentant une très bonne qualité d'image et pouvant fonctionner avec différents types de sondes (linéaires, sectorielles ou convexes) et à différentes fréquences (3,5-5 MHz en transabdominale, 7,5-10 MHz en transrectale). Certains échographes ultralégers (< 3kg) sont idéaux pour une utilisation dans les élevages. (Gonzalez- Bulnes et al. 2010).

1.3.Palpation abdominal (Méthodes physiques) :

Chez la brebis, la détection n'est possible par palpation abdominale qu'au-delà du 3^{ème} mois de gestation. Sur le terrain, la palpation transrectale est la méthode la plus utilisée pour établir un diagnostic de gestation chez la vache et la jument. Cependant, la petite taille des ovins et des caprins rend l'utilisation de cette technique difficile chez les petits ruminants. (EL AMIRI et al., 2003). Chez la brebis, cette technique est réalisée sur un animal debout en introduisant l'index d'une main dans le rectum et en manipulant l'abdomen avec l'autre main (Ibrahem Kutty 1999). Elle permet un diagnostic tardif et dont l'exactitude est variable selon les études. Bien que cette méthode soit simple, rapide et peu coûteuse, elle présente des risques non négligeables d'avortements et de blessures rectales pouvant entraîner la mort de l'animal. Pour toutes ces raisons, elle n'est plus pratiquée sur le terrain à l'heure actuelle.(EL AMIRI et al., 2003).

1.4.Détection des retours en œstrus:

La méthode la plus utilisée est la détection des retours en œstrus un cycle après la saillie ou l'insémination artificielle environ 17 jours. (BAUDET A., 2017). Quelle que soit l'espèce, le critère reste l'acceptation du chevauchement de la femelle en œstrus par l'animal détecteur (mâle entier ou vasectomisé, femelle androgénisée ou non suivant les espèces). Les femelles ou les animaux détecteurs peuvent être munis de marqueurs laissant des traces caractéristiques lors de chevauchements.

1.5. Méthodes de laboratoire:

Durant la gestation, on observe l'apparition ou l'augmentation de la concentration de différentes hormones et protéines dans le sang, le lait et l'urine maternels. Le dosage de ces molécules peut donc permettre d'établir un diagnostic de gestation plus ou moins précoce. Pour cette raison La caractérisation hématologique et biochimique des animaux est d'un intérêt particulier pour établir le diagnostic de gestation.

1.5.1.Dosage de la progestérone :

la progestérone est la première hormone à avoir été utilisée pour le diagnostic de gestation. En effet, son rôle indispensable dans le maintien de la gestation est connu depuis les années 1970 et a été à la base du développement des premières méthodes de diagnostic de gestation par dosage hormonal dans le sang ou dans le lait (Sousa et al. 2004). Cependant, il faut rappeler qu'une concentration élevée en progestérone reflète simplement la présence d'un corps jaune actif. Ce corps jaune peut être soit un corps jaune cyclique soit un corps jaune gestatif. C'est donc la présence de progestérone, à un moment où elle ne devrait plus être présente (suite à la lutéolyse physiologique) qui peut être utilisée comme diagnostic de gestation. Chez la brebis, la

concentration sanguine en progestérone peut être déterminée par dosage enzymo-immunologique (EIA) ou radio-immunologique (RIA) dès le 17-18ème jour de gestation à partir d'un échantillon de sang ou de lait. (Kharche, Kouamo 2015). Durant la gestation, la progestérone est synthétisée tout d'abord par le corps jaune gestatif puis également par le placenta. Cependant, la présence de progestérone n'est pas spécifique de la présence d'un embryon (Benyounes et al. 2008). En effet, dans le cas d'une altération du cycle œstral, d'une pathologie utérine ou ovarienne, ou d'une mortalité embryonnaire, on peut observer une concentration élevée en progestérone chez une brebis non gravide. (Sousa et al. 2004). Toutes ces situations entraînent donc des résultats faussement positifs lors de l'utilisation du dosage de la progestérone comme test de diagnostic de gestation. Du fait de la faible spécificité de ce test, le dosage de la progestérone est donc un test de non gestation plutôt qu'un test de gestation. (Montmeas et al. 2013). Pour conclure, le dosage de la progestérone dans le sang ou le lait est la méthode de diagnostic de gestation la plus précoce chez les petits ruminants, dès le 17-18ème jour chez la brebis. En outre, cette méthode est très fiable concernant le diagnostic de non gestation ce qui permet de remettre sans retard les brebis non gravides à la reproduction, mais aussi de mettre en place un traitement dans le cas d'affections utéro-ovariennes. (EL AMIRI et al., 2003).

1.5.2. Dosage du sulfate d'œstrone :

Le sulfate d'œstrone est, d'un point de vue quantitatif, le principal œstrogène présent dans la circulation sanguine maternelle durant la gestation. (EL AMIRI et al., 2003). Sa présence dans le sang maternel marque la présence d'une unité fœto-placentaire fonctionnelle chez les petits ruminants. Par ailleurs, le sulfate d'œstrone est facilement dosable par méthode radio-immunologique (RIA) ou immuno-enzymatique (EIA) sur des prélèvements de lait ou de sang. (BAUDET A., 2017). Cependant, son dosage permet un diagnostic de gestation tardif car il n'est détectable qu'à partir du 70ème jour de gestation chez la brebis. De plus, il existe de fortes variations individuelles du taux de sulfate d'œstrone, ce qui entraîne une faible exactitude de ce test pour la détection de femelles gravides (87,9%) et non gravides (44%) au 85ème jour de gestation. (EL AMIRI et al., 2003). Le dosage du sulfate d'œstrone ne permet pas non plus de dénombrer les foetus. (Worsfold et al. 1986). Pour toutes ces raisons, cette méthode est peu utilisée en tant que diagnostic de gestation sur le terrain comme en conditions expérimentales. Néanmoins, il peut présenter un intérêt dans l'étude de la survie fœto-placentaire durant les deux derniers tiers de la gestation.

1.5.3.Hormone lactogène placentaire ou hormone chorionique

somatomammotrope :

L'hormone lactogène placentaire ovine (OPL) appelée aussi hormone chorionique somatomammotrope ovine (OCS) est sécrétée par le trophoblaste dès l'apparition des cellules mono et binucléées à partir du 16e ou 17e jour de gestation. (EL AMIRI et al., 2003). Le dosage RIA de l'oPL présente une sensibilité de 97% and spécificité de 100% à partir du 64ème jour de gestation chez la brebis. (Robertson, Chan, Friesen 1980). De plus, une étude a montré que la concentration en oPL dans la circulation maternelle est significativement différente selon le nombre de foetus présents. (Taylor et al. 1980). Du fait de l'apparition tardive de l'oPL dans le sang maternel, son dosage ne présente pas d'intérêt pour le diagnostic précoce de gestation et n'est pas non plus utilisé en routine pour le dénombrement des foetus. (EL AMIRI et al., 2003).

Chapitre IV : LES ANALYSES HEMATOLOGYQUES

Les Analyses Hématologiques :

Introduction – définition :

❖ 1.1.Le sang:

Le sang, du latin "sanguis", est un liquide rouge qui circule dans les veines, les artères et les capillaires de l'organisme. (Mamadou Bobo SOW., 1991). Le sang est un tissu conjonctif constitué de plusieurs types cellulaires reposant sur une matrice liquide de nature essentiellement protéique. (MAXIMIN, K., 2010.,). les cellules baignent dans une substance fondamentale très liquide: le plasma. Les cellules sanguines sont formées à partir des organes statiques que sont la moelle osseuse, les ganglions lymphatiques et le système réticulo-endothélial ou réticulo-histiocytaire. (Mamadou Bobo SOW., 1991).

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. (DIOUF, M., 2009).

Le plasma est la partie du sang qui diffuse: dans les espaces interstitiels, il constitue avec le lymphocyte le milieu intérieur. (Mamadou Bobo SOW., 1991). 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. (DIOUF, M., 2009).

Le sang assure deux types de fonctions:

- d'une part, grâce aux globules rouges (érythrocytes ou hématies) le sang approvisionne les cellules de l'organisme en oxygène grâce à une protéine particulière appelée hémoglobine (Hb). et en éléments nutritifs. (MAXIMIN, K., 2010.,). (Mamadou Bobo SOW., 1991).

- d'autre part, il est responsable de l'élimination des sous-produits du métabolisme cellulaire. Les leucocytes (Les globules blancs) assurent en outre la défense de l'organisme contre les agents pathogènes. (Mamadou Bobo SOW., 1991). (MAXIMIN, K., 2010.,).

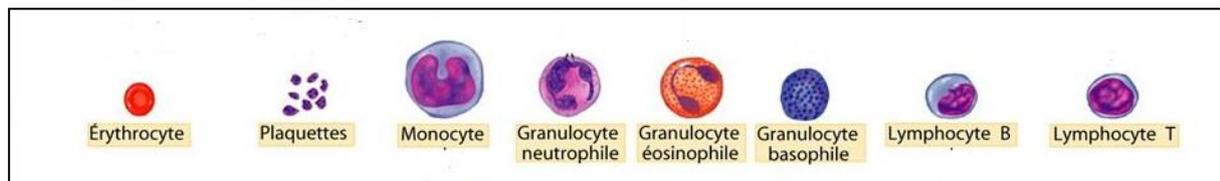


Figure 09 : Les éléments figurés du sang.(Claudia Burz., 2009.,).

1.2.L'hémogramme :

L'hémogramme est l'examen biologique, est une analyse quantitative et qualitative des éléments figurés du sang. Il apporte des informations sur les cellules du sang concernant les hématies, les leucocytes et les plaquettes. contribuant au maintien de l'intégrité de l'organisme. (MÉDAILLE et al. 2018). Il comprend six examens indispensables et complémentaires, à partir desquels on calculera les données caractéristiques de la population sanguine. Ce sont: numération des hématies, numération des leucocytes, numération des plaquettes, examen du frottis et formule sanguine, numération des réticulocytes, évaluation de l'hémoglobinémie et de l'hématocrite. (GROULADE., 1983). (RULLIER et al., 1968).

Bien souvent l'hémogramme est désigné sous le terme de NFS (Numération-Formule Sanguine). (Véronique DEMAS.,).Le premier terme est le plus approprié à l'analyse réalisée, car

les deux versants quantitatifs et qualitatifs de l'étude sont inclus dans la terminologie « hémogramme ». En effet, l'hémogramme a pour but de quantifier (numération) et de qualifier (frottis sanguin érythrocytaire) les éléments figurés du sang. (M. Sidi SIBY., 2008).

L'hémogramme constitue l'expression du résultat de :

- la numération des éléments cellulaires du sang circulant (hématies, leucocytes et plaquettes) accompagné de paramètres permettant de caractériser la population érythrocytaire (constantes érythrocytaires). (M. Sidi SIBY., 2008).

- la formule leucocytaire : détermination de la proportion des différents types de leucocytes (polynucléaires neutrophiles, éosinophiles, basophiles, lymphocytes, monocytes) et la détection d'autres cellules éventuellement (anormalement rencontrées dans le sang). (M. Sidi SIBY., 2008).

❖ 2.1. Les différents paramètres de L'hémogramme:

2.1. L'hémogramme rouge:

2.1.1. Globules rouges:

Les érythrocytes des Ovins ont la forme de disques arrondis biconcaves présentent presque les mêmes caractéristiques que chez les Bovins, avec des hématies arrondies biconcaves, la pâleur centrale est peu marquée (CANFIELD.P., 1998).

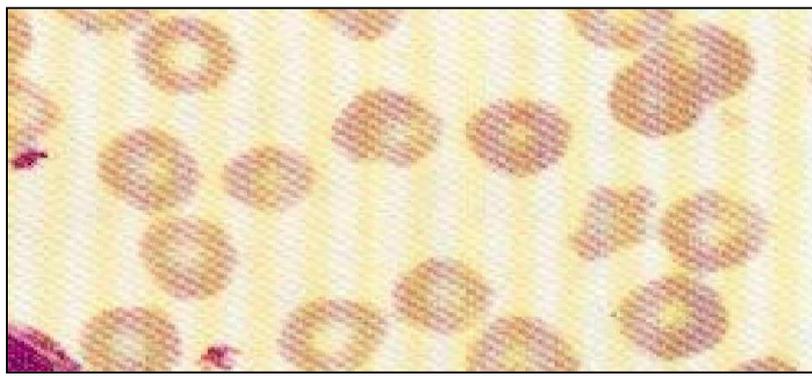


Figure 10 : Les globules rouges des Ovins. (BACHA et BACHA., 2000).

➤ 2.1.2. hémocrite :

L'hématocrite correspond à la contraction d'hemato- (sang) et de -crit (séparation). Quand il a été décrit la première fois, le terme d'hématocrite était le nom de la procédure pour séparer le sang en ses composants majeurs. (MAXIMIN, K., 2010.,).

Le sang est composé de cellules (globules rouges et blancs et plaquettes) qui baignent dans un liquide salé, le plasma. La proportion entre cellules et plasma s'appelle l'hématocrite. (CASSELEUX Eric et al., 2007). l'hématocrite est le volume occupé par les globules rouges circulants dans le sang exprimé en pourcentage par rapport au volume total du sang. Cette mesure est indispensable pour calculer le VGM et la CCMH. (ADIB Lamiae., 2017).

➤ 2.1.3. Numération globulaire (NG):

La numération globulaire est le nombre d'hématies présentes dans le sang par unité de volume. (MALHEU J., 2007).

- 2.1.3.1.L'hémoglobine :

L'hémoglobine (figure 11) est constituée d'une hétéroprotéine, appelée globine et composée de quatre chaînes polypeptidiques α_1 , α_2 , β_1 et β_2 , et de quatre hèmes qui renferment chacun un atome de fer. (Cordonnier N., 2005). C'est une protéine complexe (hétéroprotéine) appelée aussi chromoprotéine. Elle constitue le pigment respiratoire des érythrocytes (MEKROUD M., 2016). qui représente 95% des protéines totales d'un érythrocyte. Elle joue un rôle primordial dans la fixation de l'oxygène par les hématies. L'hème contient un atome de fer qui interagit avec l'oxygène. Le métabolisme érythrocytaire maintient le fer à l'état ferreux lui permettant de fixer l'oxygène. Le fait que l'hémoglobine soit contenue dans une cellule lui permet d'avoir un meilleur temps de demi-vie par rapport à une libre circulation dans le sang. (Harvey, JW., 1997). D'autre part, l'hémoglobine a une structure basique qui attire l'éosine et est à l'origine de la coloration rouge-rosâtre des érythrocytes. (Cordonnier N., 2005).

- Une valeur anormalement basse est le signe d'une anémie.
- Une valeur anormalement haute est le signe d'une hémococoncentration.

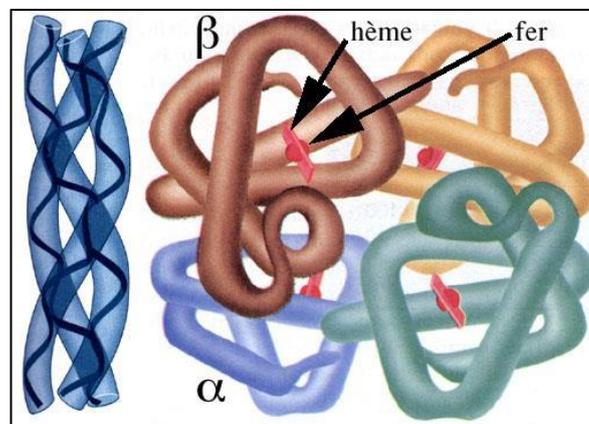


Figure 11 : Structure de l'hémoglobine. (MEKROUD M., 2016).

- 2.1.3.2.Le volume globulaire moyen :

Le VGM est un index qui exprime le volume moyen d'une hématie.

Il se mesure en μm^3 et se calcule en effectuant le rapport de l'hématocrite (= Ht exprimé en Pourcentage et multiplié par 10) à la numération globulaire (= NG exprimée en millions par mm^3). $\text{VGM} = (\text{Ht} \times 10) / \text{NG}$. (MEKROUD M., 2016).

VGM (fl) = Hématocrite (%)x10/ Nombre d'hématies (million/ mm^3)

- normocytaire lorsque le VGM est dans les valeurs usuelles
- microcytaire lorsqu'il est inférieur aux valeurs usuelles : c'est la cas dans les anémies ferriprives
- macrocytaire lorsqu'il est supérieur aux valeurs usuelles : cela peut par exemple être observé lors d'une anémie régénérative avec l'arrivée massive dans le sang de globules rouges immatures dont la taille est supérieure aux globules rouges matures. (Cordonnier N., 2005).

- 2.1.3.3.La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine :

La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, aussi parfois appelée teneur globulaire moyenne en hémoglobine, est un paramètre sanguin donnant la masse moyenne d'hémoglobine contenue dans un globule rouge.(ADIB Lamiae., 2017). exprimée en picogramme (pg). Elle est calculée par le rapport entre le taux d'hémoglobine et le nombre d'hématie. (MALHEU J., 2007).

$$TCMH (pg) = \text{Hémoglobine (g/dl)} / \text{Nombre d'hématies (million/mm}^3) \times 10^3$$

- 2.1.3.4.La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine :

La CCMH est un paramètre sanguin donnant la concentration massique moyenne d'hémoglobine contenue dans un certain volume de globules rouges. (ADIB Lamiae., 2017).

$$CCMH (\%) = \text{Hémoglobine (g/dl)} / \text{Hématocrite (\%)} \times 100$$

- 2.1.3.5.l'indice de répartition de la taille des globules rouges (IDR) :

L'IDR est l'indice de distribution des hématies ou index d'anisocytose, encore appelé red blood cell distribution width (RDW). Les automates mesurant le volume de chaque globule rouge, ils donnent la distribution du volume des hématies et produisent ainsi une évaluation quantitative de l'anisocytose. (LUSHBAUGH C., et al., 1962). Coefficient de variation calculé à partir de la courbe érythrocytaire.

2.2.L'hémogramme blanc :

➤ 2.2.1.Globules Blancs (leucocytes) :

Les leucocytes ou globules blancs, sont les cellules remplissant les fonctions de défense et de protection importantes dans l'organisme (Kolb, E., 1965). Contrairement aux globules rouges, les globules blancs contiennent un noyau, la forme de ce dernier on distingue deux grandes catégories de leucocytes : les polynucléaires et les mononucléaires. (Domart A., et al., 1985).

Les cellules du système immunitaire peuvent être divisées en deux groupes : un groupe à action spécifique et un autre à action non spécifique, bien que ceux-ci soient complètement associés in vivo. La partie non spécifique comprend les cellules phagocytaires dont les granulocytes neutrophiles, les granulocytes basophiles et les granulocytes éosinophiles. La partie spécifique fait appel à l'activité des lymphocytes B et T dépendants de l'antigène. (Issenmann H., 2003).

- 2.2.1.1.La numération leucocytaire: Globules blancs circulants dans un volume de sang.

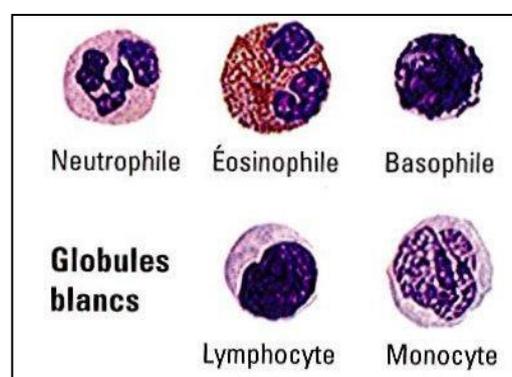


Figure 12 : Les cellules de la lignée blanche. (BORDJAH S., et al ., 2016).

2.2.2. Les polynucléaires (Les granulocytes) :

Les polynucléaires sont caractérisés par la présence dans le cytoplasme d'un noyau polylobé et deux types de granulations : primaires ou azurophiles et spécifiques. Ils sont aussi appelés les granulocytes à la présence de granulations caractéristiques dans leur cytoplasme. (BACHA et BACHA., 2000). On distingue trois types de polynucléaires : les neutrophiles, les éosinophiles et les basophiles. (Kolb, E., 1965).

- 2.2.2.1. Les neutrophiles:

Les neutrophiles sont des cellules rondes qui constituent la majeure partie des granulocytes mesurant entre 10 – 15 μm selon l'espèce. (DIOUF, M., 2009). (MEKROUD M., 2016).

Le noyau présente des incisures et peut être divisé en 2 ou 5 lobes (noyau polylobé). (Kolb, E., 1965). Le cytoplasme est faiblement coloré, caractérisé par la présence de granulations roses. (BACHA et BACHA., 2000). (Figure 13).

Les granulocytes neutrophiles sont des leucocytes caractérisés par de nombreuses granulations cytoplasmiques riches en substances antimicrobiennes, et par un noyau plurilobé. (MALHEU J., 2007).

En microscopie électronique, on peut distinguer plusieurs types de granulations : les granulations primaires très denses aux électrons et les granulations secondaires ou spécifiques. chez les Ovins et des Caprins ; possèdent un troisième type de granulation cytoplasmique qui sont plus larges que les granulations azurophiles et spécifiques. Ce granule est plus large que les deux autres et possède une activité antimicrobienne plus élevée que les granules présentes chez d'autres mammifères domestiques. (MAXIMIN, K., 2010), (Kramer., 2006).

Chez tous les animaux domestiques, les neutrophiles constituent la majeure partie des granulocytes (Kolb, E., 1965). Ces cellules sont produites dans la moelle osseuse.

Leur rôle principal est la phagocytose et la digestion de particules étrangères, surtout bactériennes. Ils apparaissent dans toute zone d'inflammation (d'origine infectieuse ou non). Ils sont attirés par des facteurs chimiotactiques provenant du complément. Ils ont donc un rôle essentiel dans la réponse immunitaire locale non-spécifique. (MALHEU J., 2007).



Figure 13 : Aspect morphologique d'un polynucléaire neutrophile. (ADIB Lamiae., 2017).

- 2.2.2.2. Les éosinophiles :

Les granulocytes éosinophiles sont des cellules sphériques de 12 à 18 μm de diamètre, Ils sont reconnaissables par leur cytoplasme bleu qui contient des granulations de couleur rouge-orangée à la coloration de May-Grundwald Giemsa. (ADILI Nezar., 2007) et possédant un noyau bilobé dans toutes les espèces avec chromatine condensée est mottée comme chez les granulocytes neutrophiles. (DIOUF, M., 2009). Ils ont une structure similaire à celle des neutrophiles et en diffèrent par leurs granulations spécifiques. (DELABESSE E et al., 2010). son identifiables par de grosses granulations éosinophiles orangées, riches en peroxydase, en

enzymes lytiques diverses et en protéine basique majeure. (BORDJAH S., et al ., 2016). (MALHEU J., 2007).

Les éosinophiles traitent en premier lieu les infections parasitaires, peuvent augmenter au moment des réactions allergiques et leur augmentation peut être une indication pour l'établissement d'un diagnostic. (ADIB Lamiae., 2017).

Une augmentation du nombre de granulocytes éosinophiles est qualifiée d'éosinophilie. Elle est observée dans le cas d'une hypersensibilité de type I et d'infestations parasitaires tissulaires. Une diminution est qualifiée d'éosinopénie et est observée en cas d'hypercorticisme surrénalien ou de traitement par les glucocorticoïdes. (BORDJAH S., et al ., 2016).

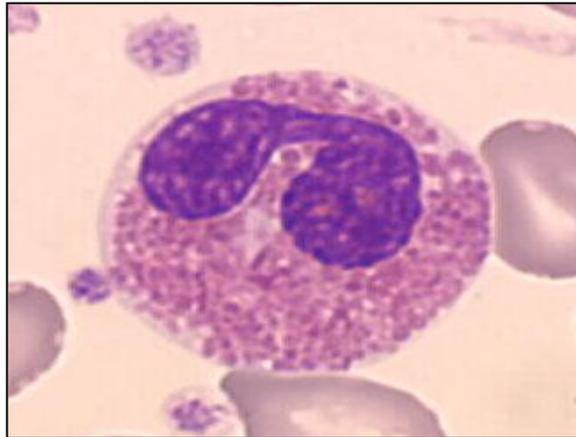


Figure 14 : Aspect morphologique d'un polynucléaire éosinophile. (ADIB Lamiae., 2017).

- 2.2.2.3. Les basophiles :

Les basophiles est le troisième granulocyte visible dans le sang périphérique circulant. Le terme basophile - qui aime les bases -(MAXIMIN, K., 2010). sont toujours les polynucléaires les plus rares dans le sang, mesurent entre 10 – 14 mm. (STEFFENS W., 2000). sont des cellules rondes avec un noyau polylobé peu segmenté (2 à 3 lobes au maximum). Leur cytoplasme peu colorable contient de nombreuses granulations rondes de couleur bleu pourpre voire violette qui masquent partiellement ou entièrement le noyau (Figure 15). (JAIN., 1993); (BACHA et BACHA., 2000); (SCHALM OW et al., 2000); (STEFFENS W., 2000).

Les basophiles sont de structure globalement comparable à celle des polynucléaires neutrophiles et voisine de celle du mastocyte : histamine, leucotriène. (BORDJAH S., et al ., 2016). Ils en diffèrent par leurs granulations spécifiques.

Polynucléaire basophile contiennent de l'histamine et de l'héparine ainsi que d'autres médiateurs inflammatoires Responsables des réponses allergiques et inflammatoires en libérant de l'histamine l'héparine et les médiateurs inflammatoires.(SCHALM OW et al., 2000). Leur fonction est quasi similaire à celle des mastocytes car ces cellules possèdent des similarités dans leurs constituants biochimiques. (MAXIMIN, K., 2010).

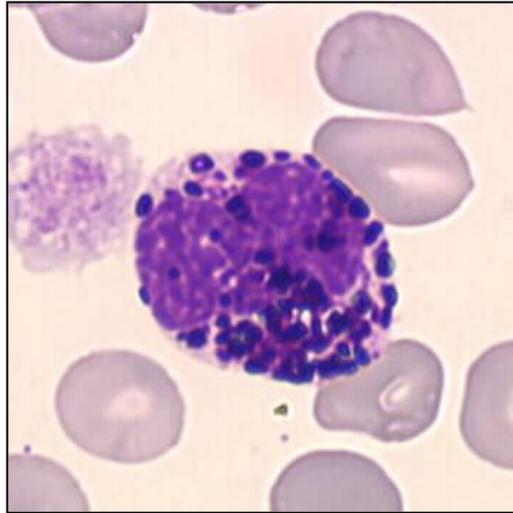


Figure 15 : Aspect morphologique d'un polynucléaire basophile. (ADIB Lamiae., 2017).

2.2.3. Les mononucléaires :

Les mononucléaires sont des cellules à cytoplasme pourvues de quelques granulations azurophiles et un noyau non lobé, on distingue deux types cellulaires : les monocytes et les lymphocytes (comprend les macrophages et les cellules présentatrices d'antigènes). (BACHA et BACHA., 2000). Leur noyau est simple et non segmenté. Leur cytoplasme peut contenir des granules mais en quantité moins importante que les granulocytes.

- 2.2.3.1. Les monocytes :

les monocytes ce sont les plus grandes taille des globules blancs circulantes dans le sang et mesurant entre 13 – 19 mm. (BACHA et BACHA., 2000). (Kramer., 2006). possèdent un noyau volumineux qui peut prendre différentes formes : bilobé, réniforme, en forme de fer à cheval, de haricot, de S ou ovoïde. (BACHA et BACHA., 2000). un cytoplasme gris-bleu et contient des granulations. Sa fonction principale est la phagocytose. (ADIB Lamiae., 2017).

L'essentiel de leurs fonctions s'exprime alors et ils sont capables de survivre plusieurs mois. Parmi leurs nombreuses fonctions, les plus importantes sont la défense contre certains micro-organismes (bactéries, virus), la phagocytose de cellules ou de débris cellulaires, la participation au processus de cicatrisation et la sécrétion de nombreuses molécules biologiquement actives (enzymes protéolytiques, interférons, interleukine I, prostaglandines...). (JAIN., 1993), (MAXIMIN, K., 2010), (BORDJAH S., et al ., 2016).

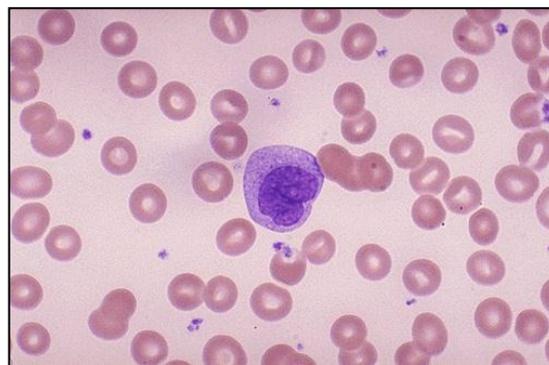


Figure 16 : Aspect morphologique d'un monocyte. (ADIB Lamiae., 2017).

- **2.2.3.2. Les lymphocytes :**

Les lymphocytes sont les leucocytes mononucléés arrondies mesurant entre 6 – 18 mm, possèdent un noyau unique relativement volumineux qui comble presque toute la cellule avec assez peu de cytoplasme bleu-pâle. Celui-ci contient des granulations très fines (azurophiles). (CANFIELD P., 1998).

Les lymphocytes sont des cellules qui réagissent de manière spécifique face à l'antigène. (BORDJAH S., et al ., 2016). se différencient des autres globules blancs principalement dans leur lieu de synthèse. En effet, les lymphocytes ne sont pas formés dans la moelle osseuse, mais dans les organes lymphoïdes tels les ganglions, la rate et les formations lymphoïdes du tube digestif (amygdales, appendice et plaques de Peyer). Il existe deux populations : les lymphocytes B à vie courte, et les lymphocytes T à vie longue. (Domart A., et al., 1985).

Il existe deux types principaux de lymphocytes :

- **2.2.3.2.1. Les lymphocytes T :**

thymo dépendants, sont responsables de la réponse immunitaire à médiation cellulaire et jouent un rôle important dans la régulation de l'immunité par l'intermédiaire des nombreuses interleukines qu'ils produisent. (BORDJAH S., et al ., 2016). ils sont concernés surtout dans l'hypersensibilité retardée, l'immunité de greffe et la réaction du greffon contre l'hôte. (Après leur passage dans le thymus, ils acquièrent une immunocompétence qui dure de 3 mois à 10 ans, et capables de conserver la mémoire d'un contact avec un antigène observé). Cette immunité peut être transférée d'un sujet à un autre par transfusion de lymphocytes (Domart A., et al., 1985).

- **2.2.3.2.2. Les lymphocytes B :** sont à l'origine de la réponse immunitaire à médiation humorale ; ils produisent les anticorps. (BORDJAH S., et al ., 2016). qui peuvent se différencier en lymphocytes B à mémoire et en plasmocytes secrètent alors les anticorps. (STEFFENS W., 2000).

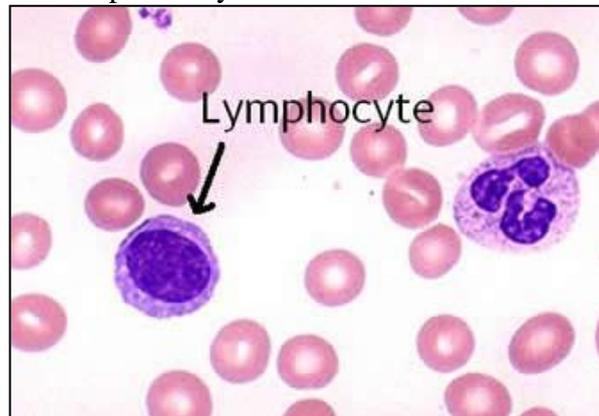


Figure 17 : Aspect morphologique d'un lymphocyte. (ADIB Lamiae., 2017).

2.3. L'héogramme Plaquettaire:

- 2.3.1. Les plaquettes :

Les plaquettes sont des petites cellules de 2 à 4 micromètres de diamètre, anucléés dans lesquelles on distingue seulement quelques granulations colorées. (M. Sidi SIBY., 2008). et résultent de la fragmentation du cytoplasme de cellules géantes dans la moelle osseuse. (ADIB Lamiae., 2017).

Les plaquettes ou thrombocytes sanguins ont un rôle essentiel au niveau de l'hémostase : formation du clou plaquettaire afin d'arrêter la fuite sanguine (coagulation du sang) ; contribution à la formation de la fibrine et rétraction du caillot. (M. Sidi SIBY., 2008).

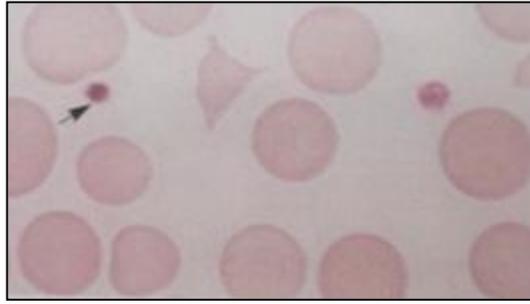


Figure 18 : Aspect morphologique des plaquettes. (ADIB Lamiae., 2017).

- **2.3.2.La numération plaquettaire:**

Examen essentiel C'est le décompte des plaquettes dans le sang circulant.

- **2.3.3.Le Thrombocrite THT :**

$THT \% = (VMP \text{ fl} \times \text{Nb de Plaquettes } 10^3/\text{mm}^3) \times 1000.$

- **2.3.4.Le volume Plaquettaire Moyen VMP :**

l'automate mesure le volume plaquettaire moyen (VPM) ; ce paramètre est déduit de la courbe de répartition de la taille des plaquettes. (MALHEU J., 2007).

- **2.3.5.Indice de distribution plaquettaire IDP :**

Indice de distribution plaquettaire CV % sur la distribution volumétrique des PLT= coefficient d'anisocytose plaquettaire. (MALHEU J., 2007).

3.Technique de Hématologie au laboratoire :

❖ 3.1.Le prélèvement sanguin :

I. Le matériel nécessaire au prélèvement sanguin est peu important, peu coûteux et aisément disponible. Le praticien peut utiliser une simple seringue sèche avec une aiguille. Dans ce cas il faut bien vérifier que la seringue et l'aiguille ne comportent aucune trace d'humidité, la présence d'eau provoquant une hémolyse et faussant ainsi les résultats des différents tests hématologiques. (LARKIN H., 1984). le matériel est aisé d'utilisation et limite les risques de contamination (l'aiguille étant stérile standard de 5 ml, montées d'aiguilles de type 19 G (1,1 x25 mm) et à usage unique et fixée sur le porte-tube, le sang n'entre pas en contact avec le milieu extérieur lors du prélèvement), La zone de prélèvement est désinfectée avec du Coton imbibé à l'alcool. (ADILI Nezar., 2007).

II. Le type de tube est ensuite choisi en fonction des analyses à réaliser. Il existe en effet différents types de tubes, avec ou sans anticoagulant. Dans le cas des analyses utilisées en hématologie, l'anticoagulant est indispensable. Cet anticoagulant est l'acide éthylènediamine tétra acétique (EDTA).

III. L'EDTA (Ethyl Diamine Tétra Acétate) : anticoagulant chélateur du calcium, conservant la forme des cellules. Ce tube a été utilisé pour les analyses hématologiques et particulièrement à la numération-formule.(LARKIN H., 1984), (SCHALM OW et al., 2000).



Figure 19 : Tubes de prélèvement (EDTA).

IV. Le Sites de ponction, Il existe plusieurs sites de ponction veineuse facilement accessibles chez les ovins. Le site préférentiel est la veine jugulaire, de part son accessibilité et sa taille importante. (SCHALM OW et al., 2000). L'inconvénient de ce site de ponction est la nécessité d'une bonne contention.

V. Techniques de ponction, Au niveau de la veine jugulaire, on exercera d'abord une compression avec une main proximale au site de ponction. Puis l'aiguille est insérée d'abord perpendiculairement à l'animal afin de percer la peau, puis inclinée selon un angle d'environ 30 degrés lors de la pénétration de la veine. Si une seringue est utilisée, le piston est alors tiré afin de créer une dépression et le sang recueilli jusqu'au volume souhaité (au moins 2 ml, en général 5ml). (LARKIN H., 1984), (REDETZKY R et al., 2002).

VI. Identification des échantillons : Il doit y avoir l'étiquetage des tubes après les prélèvements Ci-joint avec un fiche technique.

VII. Fiche technique : Avant chaque analyse, Certaines informations devraient être prises : l'âge de la Brebis ainsi que le numéro de boucle d'oreille et stade de gestation, la race, note corporelle, l'alimentation, traitement précédent, aspect des muqueuses, nombre de gestation, sont enregistrées. Les données délivrées sont ensuite archivées dans un classeur

VIII. Transport et conservation, le sang est transporté dans une glacière jusqu'au Laboratoire. La plupart des prélèvements ont été traités dans des délais très courts (12h pour les analyses sanguines).

IX. Fiche des résultats : Contient les résultats des analyses.

❖ 3.2.Réalisation pratique :

Lors du prélèvement, le tube doit être agité par retournements successifs pour éviter la formation de micro-caillots. De plus, pour avoir une analyse cytologique correcte et une numération plaquettaire exacte, l'examen doit être réalisé rapidement (<2h) après le prélèvement. Le sang peut-être conservé jusqu'à 24h à +4°C sans modification notables de la numération mais la cytologie des cellules peut évoluer.(DELABESSE E et al., 2010).

3.2.1.L'étude quantitative:

La numération et la formule sanguines sont maintenant réalisées sur des automates de façon suffisamment fiable. Cependant, ces appareils ne détectent pas toujours les cellules dont la présence dans le sang est anormale (cellules malignes par exemple). En conséquence, en cas

d'anomalie quantitative ou qualitative détectée par l'automate, une étude morphologique du frottis de sang est indispensable. (M. Sidi SIBY., 2008).

Les paramètres hématologiques fournis par ces automates :

- la numération des cellules sanguines (globules rouges, globules blancs et plaquettes)
- l'étude des constantes hématologiques :
 - Taux d'hémoglobine (Hb)
 - Hématocrite (Ht)
 - Volume globulaire moyen (VGM)
 $VGM = Ht / \text{nombre de GR (en millions)} \times 10$
Il est exprimé en femtolitre (fL) ou en microns cube (μ^3)
 - Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)
 $TCMH = Hb / \text{nombre de GR (en millions)} \times 10$
Il est exprimé en pico gramme (pg)
 - Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)
 $CCMH = Hb / Ht \times 100$
Il est exprimé en pourcentage
- Pour tous ces paramètres précités les analyses ont été effectuées à l'aide d'un automate pour hématologie.

3.1. Les compteurs d'hématologie ou automates d'hématologie :

sont des appareils plus ou moins complexes utilisés pour la réalisation de l'hémogramme. Les automates permettent d'obtenir les paramètres et constituants dits classiques (l'hémoglobine, le volume globulaire moyen, l'hématocrite et la numération des hématies, des leucocytes et des plaquettes). La connaissance de ces éléments donne accès aux paramètres érythrocytaires (la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine). Les automates permettent également d'accéder aux "nouveaux" paramètres hématologiques, notamment les courbes représentatives des populations des globules rouges, des globules blancs et des plaquettes et l'IDR, indice de distribution des globules rouges.



Figure 20 : Appareil pour la FNS (automate), (Photo personnelle).

Le mode de fonctionnement de cet automate est basé sur l'aspiration d'une quantité connue de sang total, dilué au préalable par des solutions de dilution adaptées pour chaque type de cellules.

Pour la FNS, quelques paramètres hématologiques ont été traités automatiquement

(par l'automate et qui sont les Globules rouges (GR), les globules blancs (GB), l'hémoglobine (Hb) et l'hématocrite (Ht)). (M. Sidi SIBY., 2008).

Le sang est aspiré dans des canalicules de diamètres très faibles, permettant le passage des cellules « en file indienne », ce qui entrave la réception d'un faisceau lumineux par une cellule photoélectrique. (POTRON G., et al., 1990).

Le dosage de l'hémoglobine est basé sur une méthode colorimétrique permettant à l'aide d'un acide (le cyanure de potassium) de transformer l'hémoglobine en cyanmethémoglobine. L'hématocrite ainsi que les indices érythrocytaires (VGM, CCMH et TGMH) sont calculés par intégration mathématique selon les formules classiques introduites dans le logiciel de calcul de l'automate.

Pour la FNS (Formule de Numération Sanguine), les valeurs relatives de la formule leucocytaire sont établies sur la base de l'observation des frottis sanguins. Les valeurs absolues sont ensuite calculées sur la base du nombre total de globules blancs

3.2.2.2.1. l'étude qualitative: L'étude morphologique des cellules sur frottis sanguin qui permet en outre d'établir la formule leucocytaire

3.2.2.2.1..Le frottis sanguin :

.3.2.2.2.1.1. Définition :

Le frottis sanguin est l'examen de base et de référence pour l'examen et le comptage des éléments figurés du sang. Sa réalisation est simple et rapide au cabinet, et il peut apporter de nombreuses informations qualitatives et quantitatives sur les cellules sanguines (HARALD T., et al., 2006), il permet :

- L'étude morphologique de globules rouges (taille, forme, coloration, inclusions),
Numération des réticulocytes.
 - La détection des cellules leucocytaires anormales notamment des blastes ou une myélémie.
 - L'étude des plaquettes: taille et contenu, agrégats éventuels.
- (DIOUF, M., 2009), (HARALD T., et al., 2006).

3.2.2.2.1.2. Technique de réalisation:

Le principe de confection d'un frottis consiste à étaler une goutte de sang uniformément sur une lame de verre, de manière à obtenir une seule couche de cellules, qui après coloration et fixation, pourra permettre d'effectuer l'étude morphologique des éléments figurés du sang, et de déterminer s'il y a anomalies de présence, d'aspect ou de nombre de cellules. (HANNAN K., 2017).

• Matériel :

SANG : veineux prélevé sur E.D.T.A ou éventuellement capillaire (plus riche en parasites)
LAMES : une lame porte-objet lavée et dégraissée ; une lame rodée de largeur inférieure à celle de la lame porte-objet.
PIPETTE PASTEUR à usage unique

• Réalisation du frottis :

Le frottis est confectionné à partir d'un sang prélevé sur EDTA, de préférence depuis moins de 3 heures. Il est important d'utiliser des lames parfaitement propres et dégraissées afin d'éviter les agrégations cellulaires et les dépôts de colorants, lorsque les lames ne sont pas livrées

dégraissées, il faut les faire dégraisser pendant plusieurs heures dans un bain composé pour moitié d'éther et d'alcool, puis les sécher. (HARALD T., et al., 2006).

- 1) Identification du frottis sanguin : Le frottis sanguin doit, au moins, porter une identification, c'est à dire : nom ou le numéro d'identification personnalisé. De plus, la date devrait être inscrite à l'une des extrémités de la lame de chaque frottis.
- 2) Déposer avec la pipette Pasteur Une goutte de sang de la taille d'une tête d'épingle est déposée près d'une des extrémités de la lame. L'extrémité d'une lamelle est alors maintenue au contact de la surface de la lame dans un angle d'environ 45°.
- 3) , puis glissée lentement vers la gouttelette jusqu'à ce qu'elle entre en contact avec l'arête du verre et s'étale le long de celle-ci. Il faut ensuite faire glisser la lamelle d'un mouvement régulier sans trop de pression sur toute la surface de la lame inférieure. Un mouvement moins rapide et un angle fermé donnent un frottis plus fin. (ADIB Lamiae., 2017), (DIOUF, M., 2009), (HANNAN K., 2017).

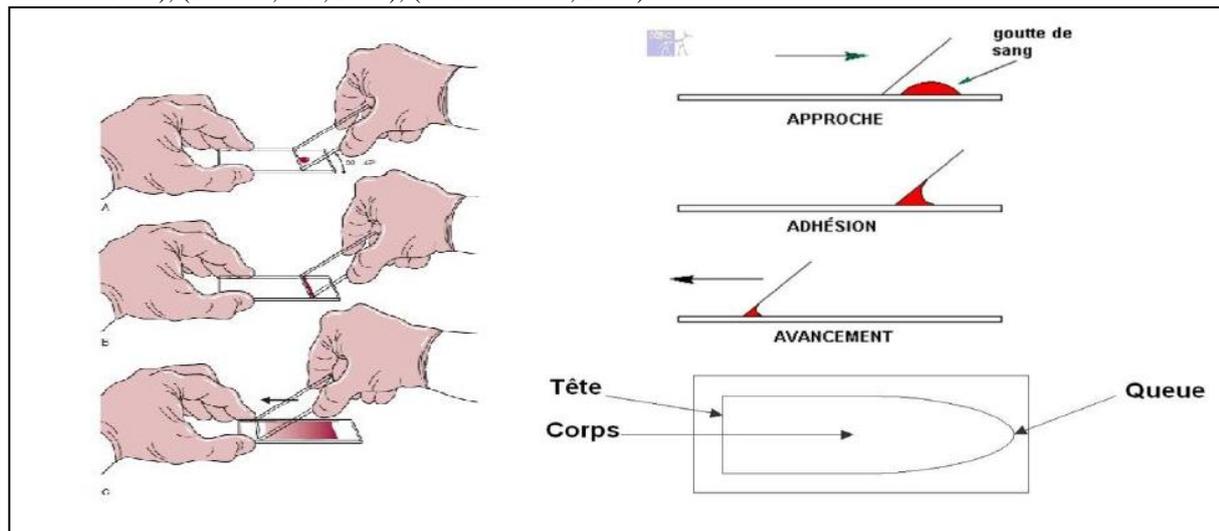


Figure 21 : Schéma de la procédure de réalisation d'un frottis. (NATIONAL COMMITTEE., 1992).

- 4) Le frottis doit ensuite être séché soigneusement à l'air libre sans être agité, Le séchage est important, sans quoi des bulles ou des artéfacts peuvent apparaître, notamment sur la morphologie des hématies (aspect crénelé, corps réfringents, ...). de bonnes colorations n'étant réalisables qu'après 2 heures de séchage. (DIOUF, M., 2009)
- 5) Après le séchage, le frottis peut être coloré. L'interprétation des lames ainsi réalisées nécessite la coloration de celles-ci. La coloration de May-Grünwald-Giemsa est la référence en cytologie vétérinaire. Cependant, cette technique est relativement longue à mettre en place. Après réalisation du frottis sanguin, on peut procéder rapidement à un contrôle de qualité de l'étalement à l'œil nu.
- 6) Coloration :
 - A. La lame du frottis est placée sur un support horizontal au dessus d'un bac de coloration. On verse sur la lame 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur de façon à recouvrir complètement le frottis. Laisser agir 3 minutes. Ajouter autant de gouttes d'eau neutre que de gouttes de colorant. Le mélange doit être rapide. Laisser agir 2 minutes. Pendant ce temps, on prépare la dilution du Giemsa : pour cela introduire 20 cm³ 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).
 - B. Rejeter le colorant par un jet d'eau neutre. Déposer la lame (frottis en dessous) dans la boîte, et laisser agir 20 minutes (Giemsa lent). Rincer sous un jet d'eau

neutre. Laisser sécher la lame à l'air (ou au séchoir), 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. Après coloration, on peut obtenir :

- a) Un frottis trop bleu qui résulterait d'une insuffisance de lavage, d'un temps de coloration trop long, d'un frottis trop épais ou d'un colorant trop basique.
- b) Un frottis trop rouge suite à une coloration insuffisante, un lavage ou un rinçage excessif ou à un colorant trop acide.
- c) Un frottis terne, brunis ou verdâtre qui est du à un vieillissement du frottis (après un mois). [38](DIOUF, M., 2009).

Le frottis sanguin doit répondre aux critères de qualité reconnus suivants :

- Être mince, régulier et uniforme ;
- Se terminer en pointe arrondie (pinceau) ou carrée ;
- Comporter des marges ;
- Être séché complètement et rapidement à l'air avant la coloration afin d'éviter la formation d'artéfacts et une altération de la morphologie des érythrocytes. (Hélène., et al., 1992).

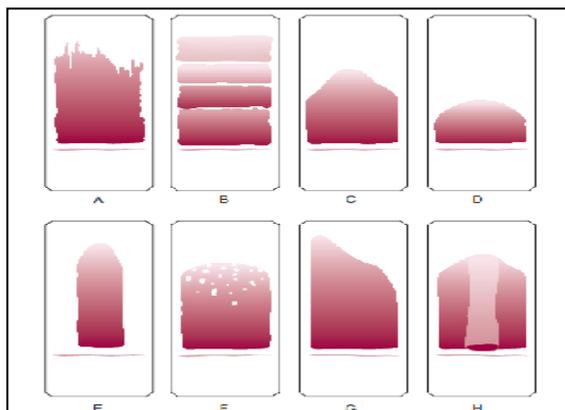


Figure 24 : Exemples de frottis non acceptés, associés aux erreurs de réalisation les plus communes. (Hélène., et al., 1992).

7) lecture du frottis sanguin :

1. Zone de comptage :

Un étalement sanguin sur une lame de verre correctement réalisé est subdivisé en plusieurs parties :

- La tête est l'extrémité au niveau de la goutte de sang ;
- La queue est l'extrémité opposée généralement en pointe, présentant des « barbes » visibles à l'œil nu. C'est une zone très mince où les cellules se regroupent en colonne. Les globules rouges ne présentent plus de zone centrale plus claire et les globules blancs, nombreux, sont souvent détériorés. (ANGULO J., et al., 2003).
- Le corps fait suite à la tête. C'est une zone épaisse qui contient de nombreux globules rouges. Ces derniers sont distribués de façon hétérogène, se superposent et forment souvent des rouleaux. Les leucocytes sont de petite taille (ils se sont rétractés) et généralement fortement colorés. (THRALL M.A., et al, 2004).
- Une zone dite « monocouche » est située entre le corps et la queue du frottis. Les cellules s'y répartissent en une seule couche sur la lame. Les globules rouges ont une distribution uniforme, ne se chevauchent pas et présentent une distorsion minimale. (SIROIS M., 1995).

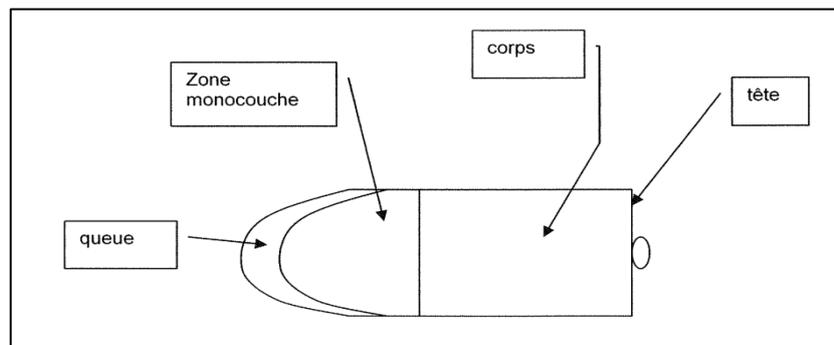


Figure 22 : Représentation schématique d'un frottis sanguin sur une lame de verre. (FRENCH T.W., et al., 1997).

2. Observation au microscope optique :

On utilise un microscope optique à platine mobile permettant le déplacement de la lame sous l'objectif. Le condenseur est placé en position haute de façon à concentrer la lumière sur le champ observé. Le frottis sanguin doit tout d'abord être parcouru dans sa totalité au faible grossissement (x10) pour s'assurer de la qualité de l'étalement, de la coloration et pour juger de la distribution des cellules. (WINTROBE M.M et al, 1981). En général, on recherche également la présence d'agglutinats de plaquettes ou de parasites sanguins dans les franges et des rouleaux de globules rouges. Enfin, on repère la zone de comptage où les érythrocytes sont voisins sans cependant se toucher (LORD-DUBE H., et al., 1983). Le grossissement x40 est utilisé pour évaluer la forme et la taille des globules rouges, et avec un peu d'expérience pour faire une estimation de la quantité de leucocytes et de plaquettes. (JAIN N.C., 1986). Ce grossissement est insuffisant pour apprécier les détails morphologiques des cellules. Par conséquent, la formule leucocytaire ainsi que l'examen cytologique minutieux doit s'établir avec un fort grossissement (x100). Pour se faire, une goutte d'huile à immersion est déposée sur la lame, à l'endroit du frottis précédemment repéré comme la zone de lecture.

3. Nombre de cellules nécessaires pour le comptage :

D'après tous les auteurs, l'établissement de la formule nécessite le comptage d'une centaine de leucocytes au minimum. Le nombre conseillé varie d'une publication à l'autre entre 100 et 500 cellules. La précision augmente avec un grand nombre de cellules comptées mais le comptage devient alors fastidieux. Le NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) fournissant les méthodes standards à suivre dans les laboratoires aux Etats-Unis, recommande de compter et classer systématiquement 200 cellules. Dans le cas où le sang serait leucopénique, il est souvent difficile de parvenir à trouver autant de leucocytes dans la zone de lecture. Il est donc nécessaire faire un comptage additionnel avec un étalement sanguin supplémentaire. (NATIONAL COMMITTEE., 1992). Par ailleurs, il est intéressant de comparer l'intervalle de valeurs dites usuelles à la variation des résultats inhérente à l'imprécision de la méthode de comptage. De simples considérations statistiques permettent de conclure que l'imprécision liée au comptage de 100 à 200 cellules seulement, peut à elle seule donner un intervalle de résultats aussi large que l'intervalle des valeurs usuelles. (RUMKE C., et al., 1975.). Ceci est d'autant plus marqué que l'on s'intéresse à des cellules blanches dont le nombre est relativement faible dans la formule (basophiles notamment). Il est surprenant de remarquer que malgré ces considérations et la précision nécessaire pour une interprétation fiable de la formule par le clinicien, le nombre de cellules à classer n'ait pas augmenté. (LANTIS K.L., et al, 2003).

4. Méthodes de déplacement au dessus de la lame :

Toutes ces méthodes ont pour objectif commun d'éviter de repasser au même endroit et de compter deux fois la même cellule. On remarque une grande diversité des méthodes dites valables d'un ouvrage l'autre et au sein d'une même publication, certains auteurs décrivent même plusieurs techniques possibles. Ainsi, (KERR M.G., 1989). explicite deux méthodes :

- La méthode en ligne droite : Elle consiste à parcourir des champs consécutifs selon une ligne droite à environ 5mm du bord horizontal, en partant près de la queue et en s'en éloignant.
- La méthode en créneaux : Il s'agit de parcourir 3 champs le long du bord horizontal suivi de deux champs allant vers le centre puis 2 champs horizontaux et 2 champs verticaux remontant vers le bord et ainsi de suite. Ceci limite le comptage des cellules dans une zone de 1mm du bord du frottis.

(LORD-DUBE H., et al., 1983). conseillent 3 méthodes en créneaux différentes que l'on peut décrire dans les figures suivantes :

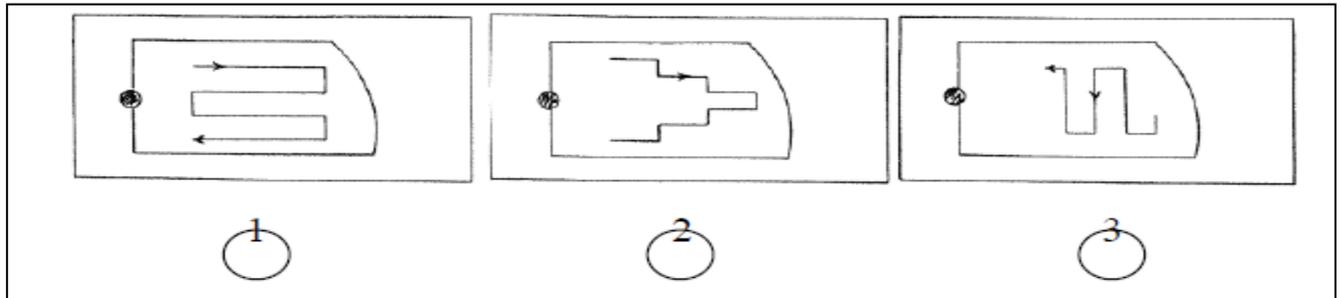


Figure 23 : Les trois méthodes de créneaux.(LORD-DUBE H., et al., 1983).

La première méthode décrit des créneaux dont les grandes lignes sont horizontales. Dans ce cas la lecture se fait plutôt dans le sens horizontal. La deuxième décrit un trajet en marches d'escaliers s'éloignant d'un bord horizontal pour aller vers celui opposé. La dernière décrit des créneaux dont les grandes lignes sont verticales. D'après les trois figures, la zone balayée ne comprendrait pas les bords. On peut également citer la méthode en palissades, la méthode des quatre temps de Schilling, la méthode en section transverse, etc. Les possibilités de balayage sont ainsi très nombreuses et le choix peut sembler difficile. Mais si la distribution des leucocytes est réellement hétérogène sur la lame, c'est alors la zone balayée qu'il est surtout important de choisir.

V PARTIE EXPERIMENTALE

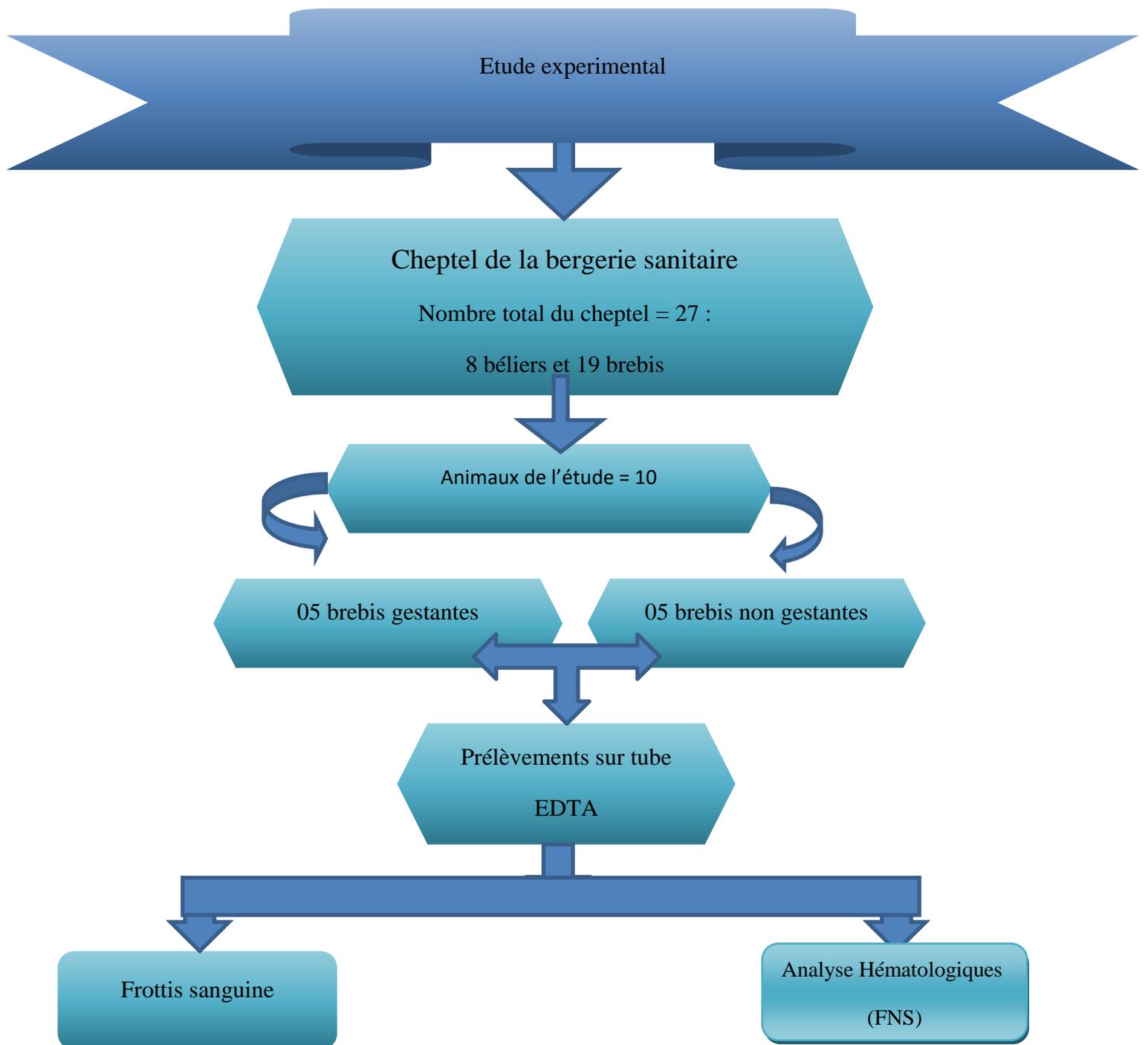


Figure 25 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

Matériels et méthodes :

1. Animaux :

Les visites des exploitations ovines ont été effectuées dans la bergerie sanitaire de l'Institut des Sciences Vétérinaires de Tiaret. Le cheptel étudié est constitué de femelles de race Rembis de différents âges (entre 06 mois et 3 ans), les femelles indemnes des maladies et en bonne santé. L'alimentation avec une ration alimentaire équilibrée de l'orge de 800g /tête et de concentré de 500g par jour/ tête avec la paille et le foin (une botte pour 20 têtes/jour).



Figure 26 : Cheptel ovin.

Tableau 01 : Liste du cheptel ovin : le : 05/03/2019 (Selon le Responsable de la bergerie sanitaire Mr Aouraie Djillali)

N°	Désignation	Sexe	N°d'immatriculation	Observation
01	Bélier	Mâle	03945	Laparotomie
02	Bélier	Mâle	03957	/
03	Brebis	Femelle	F 7363	Césarienne
04	Brebis	Femelle	03921	/
05	Brebis	Femelle	03994	Césarienne
06	Brebis	Femelle	03950	Laparotomie
07	Brebis	Femelle	03973	Laparotomie
08	Brebis	Femelle	03933	/
09	Brebis	Femelle	03984	Laparotomie
10	Brebis	Femelle	03963	Laparotomie
11	Antenaïse	Femelle	F 7354	Laparotomie
12	Antenaïse	Femelle	J 8103	/
13	Antenaïse	Femelle	F 7355	Laparotomie
14	Antenaïse	Femelle	F 7353	/
15	Antenaïse	Femelle	J 8102	Laparotomie
16	Antenaïs	Male	F 7302	Laparotomie
17	Antenaïs	Male	F 7383	Laparotomie
18	Antenaïs	Male	J 8105	Laparotomie
29	Brebis	Femelle	03917	Laparotomie
20	Brebis	Femelle	F 7366	Césarienne
21	Brebis	Femelle	03966	Césarienne
22	Agnelle	Femelle	F 7336	/
23	Agnelle	Femelle	J 7722	Né le : 17/11/2018
24	Agneau	Male	J 7723	Né le : 18/11/2018
25	Agneau	Male	J 7726	Né le : 22/12/2018
26	Agnelle	Femelle	J 7727	Né le : 13/01/2019
27	Agnelle	Femelle	SN	Né le : 03/03/2019

2. Echantillon du sang:

Au cours de cette étude, 10 prélèvements de sang ont été effectués au niveau de la veine jugulaire. Dans un tube contenant de l'EDTA ont été destinés pour les analyses hématologiques (laboratoire de Biochimie Animale. (Université IBN KHALDOUN – Institut des Sciences Vétérinaires Département de Santé Animale Laboratoire de Diagnostic Service d'Hématologie – Biochimie). Ces échantillons ont été repartis en deux lots :

Lot 1 : 05 femelles non gestantes.

Lot 2 : 05 femelles gestantes.

3. Matériels :

3.1 Matériel de prélèvement sanguin :

- Gants en latex.
- Aiguille stérile de prélèvement.
- Porte tube.
- Tube mauve (avec anticoagulant : EDTA).
- Coton et l'iode pour antiseptique et hémostase.

3.2 Matériel de laboratoire :

3.2.1 Matériel de réalisation de frotti sanguins :

- Lames.
- Papier absorbant (pour dégraisser).
- Alcool.
- Sèche lame.
- Crayon (pour numérotation des lames).
- Micro tube à hématocrite.
- Coloration de MGG.
- L'eau distillée

3.3. Matériel de lecture :

- Microscope photonique.
- Huile à immersion.
- Fiche de comptage cellulaire.
- Crayon.

3.4 Matériel de numération automatique :

- Compteur cellulaire automatique de type «mythic 18».
- Réactifs pour automate.
- Tube EDTA.
- Fiche de résultats.

4. Méthodes :

4.1 Echantillonnage :

4.1.1 Analyse d'échantillon :

4.1.1.1 Laboratoire d'analyse : Sur toute la durée de notre étude, les prélèvements sanguins ont été acheminés et analysés au niveau du laboratoire d'hématologie vétérinaire de l'institut des sciences vétérinaires (Université IBN KHALDOUN – Institut des Sciences Vétérinaires

Département de Santé Animale Laboratoire de Diagnostic Service d'Hématologie – Biochimie). Ce laboratoire est doté d'un compteur cellulaire automatique de type «mythic 18». Mais aussi du matériel manuel de routine d'hématologie microscope optique, produit de colorations MGG.

4.1.1.2 Analyse Hématologique (FNS) : L'analyse Hématologique a été réalisée à l'aide d'un Compteur cellulaire automatique de type «mythic 18». Les paramètres calculés dans notre étude sont suivants : Globules Blancs, Globules rouges, Plaquettes, Hémoglobine, Hématocrites. Indices de Wintrobe : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine(CCMH), Teneur Globulaire Moyenne en Hémoglobine (TGMH).VMP.VGM. IDR. IDR.sd.



Figure 27 : Réalisation de l'analyse hématologique (FNS).

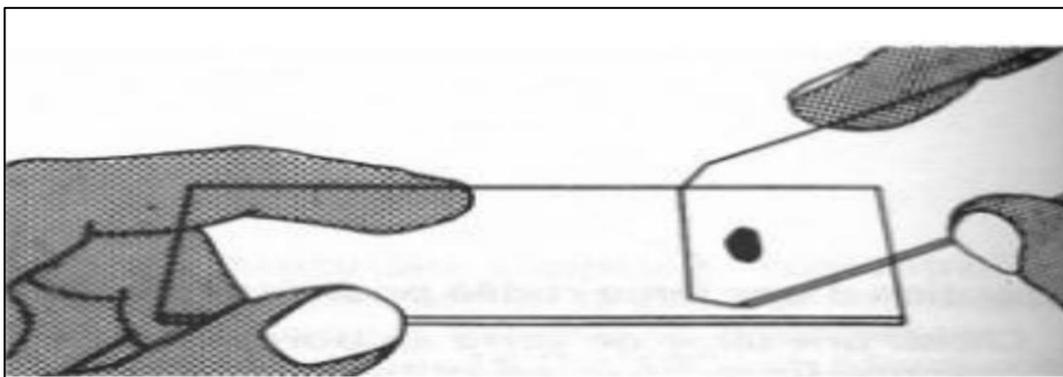
4.1.1.3 frottis sanguins :

Réalisation des frottis sanguin pour chaque brebis pour déterminer le nombre de GB (poly nucléaires et mononucléaire et observation morphologique des éléments figuré a laide d un microscope optique et avec utilisation de coloration MGG.

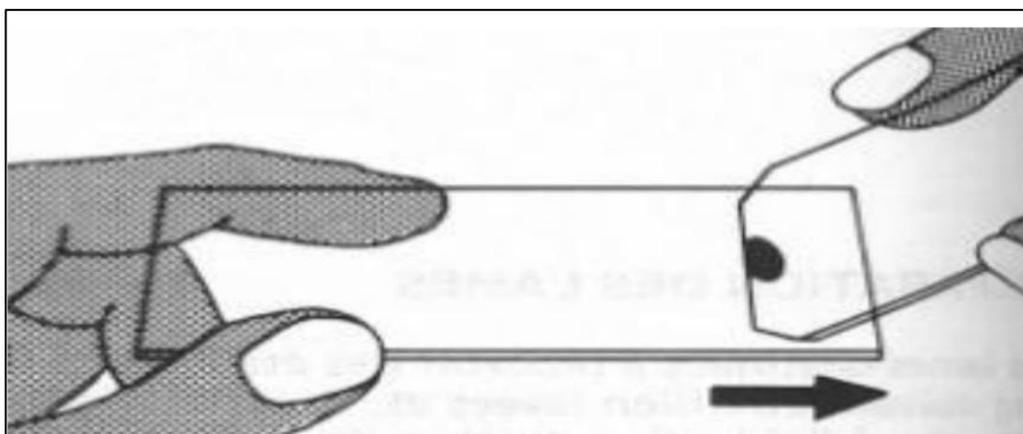
2.1. Les Colorants : Un certain nombre de colorant doivent être disponible, Pour réaliser un frottis sanguin.

- Colorant de May-Grunwald neutre contenant un colorant acide, l'éosine, et un colorant basique, le bleu de méthylène)
- Colorant de Giemsa neutre dilué au 1/10 (contenant lui aussi de l'éosine, et un colorant basique, l'azur de méthylène).

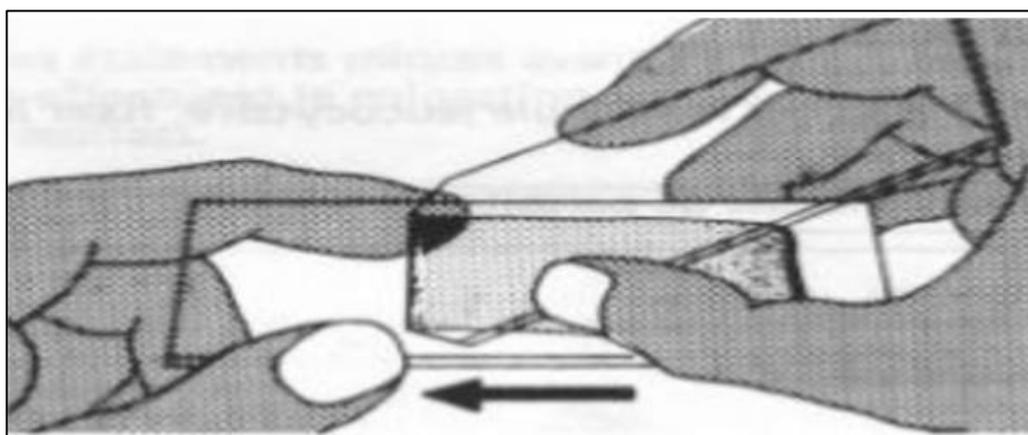
2.2. Préparation d'un frottis sanguin : Nettoyage de lame avec l'alcool et papier absorbant puis on dépose une petite goutte de sang à un centimètre à l'une des extrémités d'une lame propre posée horizontalement.



Poser la lame rodée juste en avant de la goutte de sang



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



Laisser le sang se répartir tout le long du bord de la lame rodée, puis pousser la lame rodée jusqu'au bout de la lame d'étalement, d'un mouvement doux et régulier (tout le sang doit être réparti avant que l'on atteigne le bout de la lame).

2.3. Contrôle du frottis: Après la préparation du frottis sanguin, il faut vérifier que l'étalement est bien fait

1. Il ne doit pas présenter de lignes transversales ou horizontales
2. Il doit être lisse aux extrémités, et non irrégulier ou strié
3. Il ne doit pas être trop long ni trop épais
4. Il doit être étalé uniformément

2.4. Coloration du frottis : La coloration de May-Grunwald Giemsa, est une méthode de coloration utilisée en hématologie pour différencier les cellules du sang.

2.4.1.Principe de la coloration : La coloration permet de réaliser la formule sanguine et médullaire. Le principe de cette coloration repose sur l'action combinée de deux colorants neutres: le May-Grunwald et le Giemsa.

2.4.2.Les étapes de coloration: On place les Frottis dans un bac, puis on met des gouttes de May-Grunwald pendant 1-3 min, en suite on rince avec l'eau distillée pendant une minute, enfin on met des gouttes de Giemsa dilué à 1/10^e pendant 15 a 20 min puis rinçage avec l'eau de robinet On laisse les lames sécher à l'aire avant l'observation au microscope.



Figure 28 : réalisation de frottis sanguin.

- **Résultats et Discussion :**

Dans cette partie nous allons exposer l'ensemble des résultats obtenu dans le cadre de notre travail. L'objectif que nous sommes fixées est d'explorer les paramètres hématologiques durant différents stades de gestation chez la brebis. Nous avons commencés par les résultats de l'analyse hématologiques où nous avons comparés les paramètres hématologiques des femelles non gestantes et celles des gestantes. En suite, on termine par les résultats des frottes sanguin.

- **Pourcentage des cas des brebis gestantes par apport à l'ensemble des femelles du cheptel**

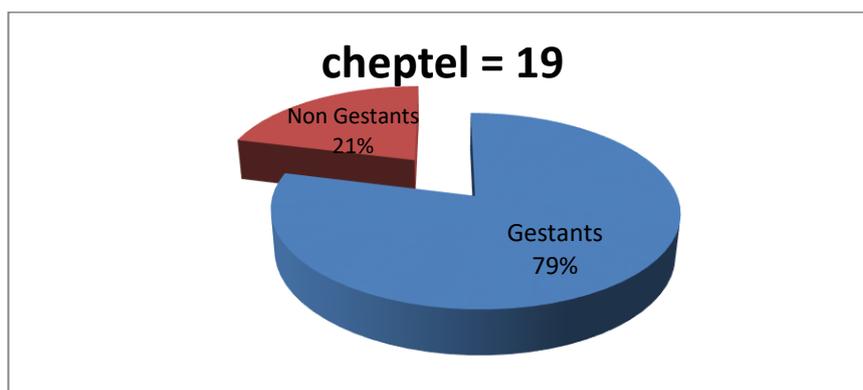
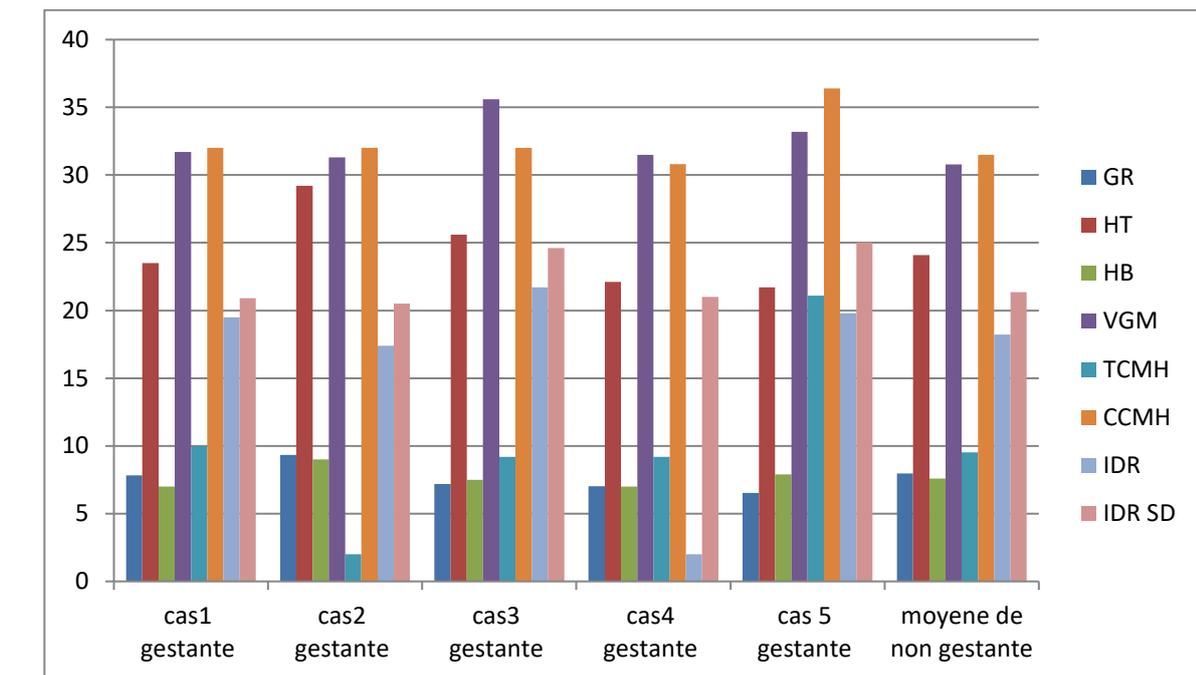


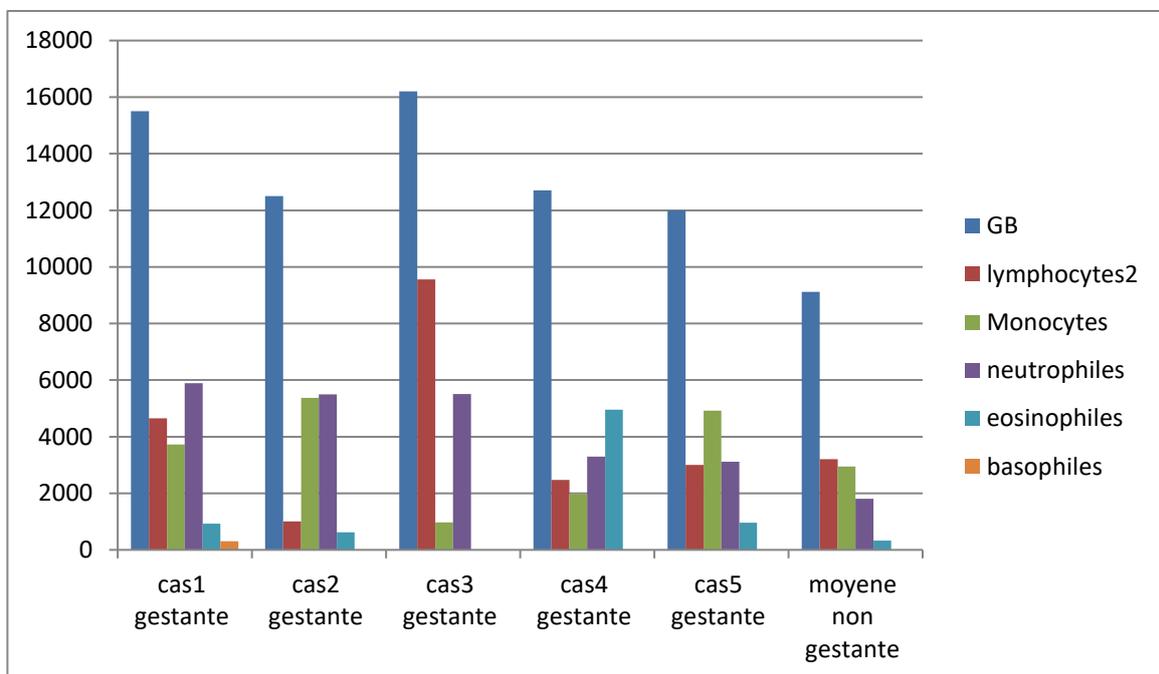
Tableau 02: Moyennes des paramètres hématologiques des femelles gestantes et femelles non gestantes.

L'hémogramme	Les paramètres	femelles gestantes	femelles non gestantes	Les valeurs usuelles (Kramer.,2006).(ADILI. Nezar., 2007).(JAIN N.C., 1986).
Hémogramme rouge	GR	(7.58)10 ⁶ mm ³	(7.974)10 ⁶ mm ³	(9_15)10 ⁶ /mm ³
	HB	7.4 g/dl	7.58 g/dl	(9_15)g/dl
	HT	24.42 %	24.08 %	(27_45)%
	VGM	32.7 fl	30.78fl	(28_40) fl
	TGMH	10.18 pg	9.52 pg	(08_12) pg
	CCMH	32.58 g/dl	31.5 g/dl	(31_34)g/dl
	IDR	19.58 %	18.22 %	/
	IDR SD	22.38 %	21.36 %	/
Hémogramme blanc	GB	27740 mm ³	9120 mm ³	(4000_12000)/mm ³
	LYMFHOCYTES	8591.2 mm ³	3202 mm ³	(2000_9000)/mm ³
	MONOCYTES	6957.4 mm ³	2947.8 mm ³	(0_750) mm ³
	NEUTROPHILES	10603.6 mm ³	1809.4 mm ³	(700_6000)/mm ³
	EOSINOPHILES	1493 mm ³	323.6 mm ³	(0_1000)/mm ³
	BASOPHILES	0 mm ³	3.6 mm ³	(0_300)/mm ³
Hémogramme plaquettaire	PLAQUETTES	511.16 10 ³ mm ³	1356.8 10 ³ mm ³	(100_800)10 ³ /mm ³
	IDP	14.86 %	11.9 %	/
	VMP	11.62 fl	14.16 fl	/

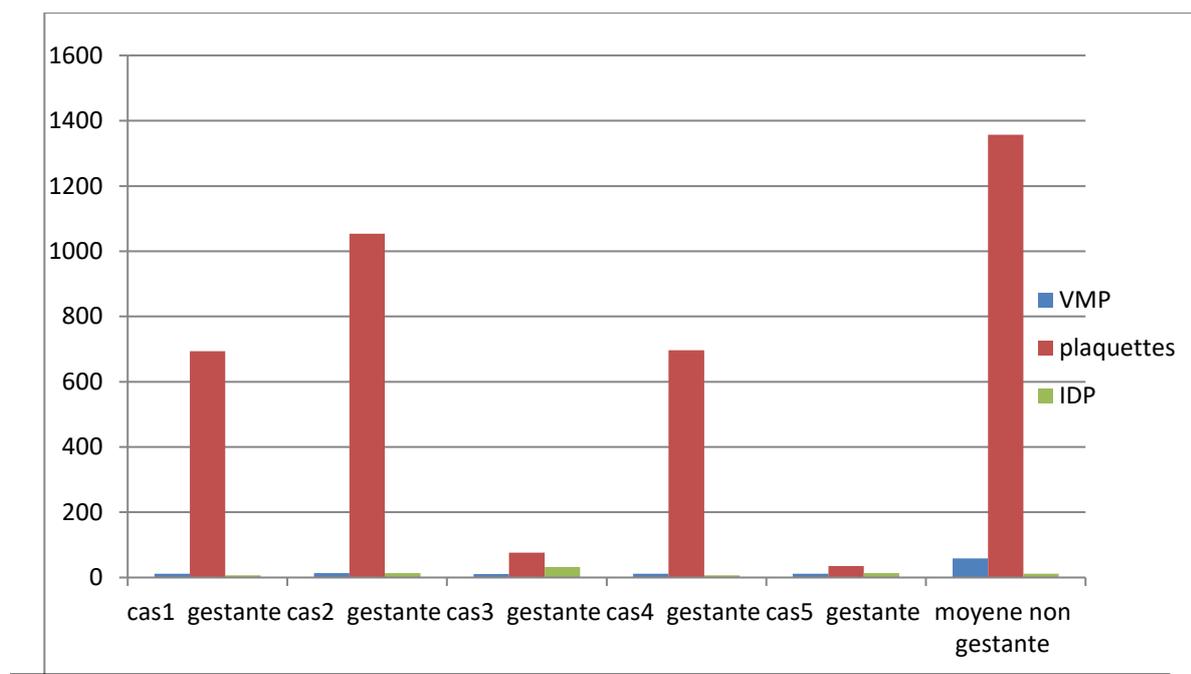
Les graphes : comparaison entre les différents paramètres hématologiques.



HISTOGRAMME 01 : HEMOGRAMME ROUGE



HISTOGRAMME 02 : HEMOGRAM BLANC.



HISTOGRAMME 03 : Hémogramme Plaquettaire

Description et comparaison entre les paramètres hématologiques des femmes gestantes et femmes non gestantes :

Chez les femmes gestantes on observe :

- Dans l'hémogramme rouge :
 - Le taux des GR est diminué chez les femmes gestantes par rapport aux femmes non gestantes ($6.54-9.34.10^6/\text{mm}^3$).
 - le taux de l'HB est diminué dans le groupe des femmes gestantes par rapport à celui des femmes non gestantes et pour certains cas il est le même ($7-9.34 \text{ g/l}$).
 - le taux d'HT est diminué à des valeurs normales et presque identique à celle des femmes non gestantes.
 - le taux de VGM est dans les valeurs normales et identique à celui des femmes non gestantes.
 - le taux de TCMH et CCMH sont aussi dans les normes.
 - le taux d'IDR on remarque une légère augmentation par rapport aux femmes non gestantes
 - le taux d'IDR-SD presque les mêmes valeurs pour les deux lots

- Dans L'Hémogramme blanc :
 - pour les GB on observe que les femelles gestantes possèdent une augmentation anormale que les valeurs usuelles par contre chez les femelles non gestantes on trouve une diminution dans la majorité des cas
 - les érythrocytes (Lymphocytes/Monocytes/Neutrophiles/Éosinophiles/Basophiles.) sont perturbés chez les femelles gestantes tandis que sont presque identique avec une légère perturbation dans certains cas des femelles non gestantes
- Dans L'Hémogramme plaquettaire :
 - le taux de les plaquettes déficits chez les femelles gestantes tandis que chez les femelles non gestantes sont presque dans les normes.
 - le taux de VMP est inférieure chez les femelles gestantes par rapport Les femelles non gestantes
 - le taux d'IDP on observe une baisse augmentation a celle des femelles non gestantes.

Discussion

Caractérisation des animaux d'étude:

Tous les animaux de l'étude étaient de race Rembis. Cette race est connue par sa fertilité et son double mis bas par an (2 fois par an). Notre échantillon d'étude était composé de brebis (gestants et non gestantes) avec un âge moyen de 2,5 ans. Les animaux concernés par notre étude avaient-ils un assez bon embonpoint, car il y a eu ni d'animaux trop gras, ni d'animaux cachectiques. En effet, la NEC était comprise entre 2 et 3, avec 95 % des animaux ayant une NEC de 3. De plus, la NEC de 3 était observée chez la totalité des ovins échantillonnés.

Les variations hématologiques :

les paramètre de l'Hémogramme rouge :

Les résultats obtenus ont montré que la concentration plasmatique moyenne des **globules rouges était** non significativement diminuée chez toutes les brebis gestantes. Nos résultats sont en accord avec les résultats de (Tharwat et al., 2013). La diminution de la concentration plasmatique moyenne des GR en fin de gestation peut découler du stress associé à la parturition et à l'allaitement (El-Ghoul et al., 2000). Par contre Pospisil et al., (1987) chez l'espèce caprine qui est plus proche que l'espèce ovine, n'a pas annoncé statistiquement une différence chez les chèvres gestantes et non-gestantes. Ces différences entre les études sont sans doute en raison de différents stades de gestation étudiés (Manat T. D., 2016). Il a été observé que la concentration des globules rouges est augmentée de manière significative au cours du dernier trimestre de gestation. Lee et al. (2012) ont évalué le sang de chèvre (les États ouest-africains) en pré-partum et le jour de la parturition et ont constaté que les GR étaient plus élevés pendant la

gestation et la mise bas. Les auteurs Makinde et al. (1983). ont attribué cette augmentation à l'augmentation de l'activité de la moelle osseuse.

Nos résultats ont montré que la concentration plasmatique moyenne d'**hémoglobine** est diminuée chez les brebis gestantes. Ces résultats sont en accord avec ceux de Azab, M. E et al., (1999) qui ont trouvé chez la chèvre par l'hémodilution de la concentration d'Hb. Cela pourrait maintenir et prévenir une diminution marquée de la teneur en O₂ dans le sang. La diffusion de l'O₂ du sang maternel au sang fœtal dépend de la différence de tension O₂ dans le sang maternel et fœtal, (Guyton H al., 1996) donc une diminution marquée de l'hémoglobine peut entraîner une réduction de l'apport d'O₂ au fœtus. D'après Singh et al, (1991), la diminution de L'HB pendant la gestation, non seulement en raison de la mobilisation de l'hémoglobine de la mère dans la circulation fœtale, mais aussi en raison de la dilution du sang qui se produit comme une conséquence de l'augmentation du volume plasmatique. Par contre Bamerny A. O., (2013) et Antunovic Z., (2011). chez la brebis ils ont signalé une augmentation non significative de l'Hb en pré partum. Ces résultats probablement dus à une demande plus élevée pour l'oxygène et les exigences du taux métabolique plus élevé (El-Sharif et Assad, 2001). et (Antunovic Z., 2011)

Les résultats obtenus ont montré une diminution non significative du taux plasmatique moyenne d'**hématocrite**. chez toutes les brebis gestantes, Nos résultats sont en accord avec ceux de Mbassa et Poulsen., (1991) et (Eias E et al., (2016) . Ces résultats pourraient être attribués à l'effet de l'hémodilution provenant d'une augmentation dans le volume de plasma. Ce phénomène a été aussi observé chez les chèvres Saanen gestante (Biagi G et al., (1988).

Dans notre étude, le **VGM** a été dans les normes chez les femelles gestantes et identique à celui des femelles vides. D'autre auteurs Eias E et al., (2016), Azab, M. E et al., (1999) ont noté que chez la chèvre le VGM a été élevé au moment de la gestation. Ces résultats pourraient être expliqués par la perte de globules rouges au cours de la parturition. Oliveira et al., (2012). et Bamerny A. O., (2013), El-Sharif et Assad, (2001). Par contre, un résultat différent a été rapporté par Kumar et al, (2001) le taux du VGM a été significativement diminué au cours de la gestation chez le buffle.

Notre résultats indiquent que les valeurs de la **CCMH** et la **TCMH** chez les brebis gestantes ont été dans les normes et ont été identiques à celles chez les brebis non gestantes. BORDJAH S., et al., (2016) montrent que les valeurs de **CCMH** n'ont présenté aucune différence pendant le premier trimestre de la gestation chez le bovin sauf dans le taux de la TGMH avec une diminution dans le 2e mois de gestation par rapport aux autres. A signaler qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents groupes de femelles, ceci pourrait être dû au nombre réduit de femelles. Par contre des résultats ont montré une élévation significative de la concentration plasmatique moyenne du **CCMH** chez les chèvres. Benrouag k et al., (2018). Ces résultats sont en accord avec ceux de Eias E et al., (2016), Azab, M. E et al., (1999) qui ont expliqué leurs résultats par la dilution du sang qui résulte de l'augmentation du volume plasmatique et empêche une diminution marquée de la capacité totale d'oxygénation du sang circulant.

les paramètre de l'Hémogramme blanc :

Notre étude montre une augmentation des globules blancs cela est en accord avec plusieurs travaux BORDJAH S., et al., (2016) chez la vache, Benrouag k et al., (2018) chez la chèvre. Ayoub et al, (2003) chez les chamelles) : ces auteurs ont rapporté des taux de leucocytes chez les femelles gestantes plus élevés que chez les femelles non gestantes.

Selon Ullrey et al (1965), le pourcentage des neutrophiles (granulocytes) augmente pendant la gestation de 60% du nombre total de leucocytes et diminue ensuite à 45% au 14e jour de lactation. De même, Kramer., (2006) a signalé une plus grande mobilisation des neutrophiles dans la circulation résultant en une augmentation du nombre total des globules blancs. Cela pourrait être attribué au fait que le stress stimule la glande pituitaire antérieure pour sécréter l'ACTH. L'ACTH circulant incite à son tour le cortex surrénal à produire les glucocorticoïdes, impliqués dans la mobilisation des neutrophiles du pool corporel de la circulation périphérique. (Adenkola et al., (2009). De plus, JAIN., (1993) a signalé que le nombre de leucocytes augmente graduellement au cours de la gestation et à la mise bas et qu'il est généralement supérieur à la valeur normale chez la plupart des animaux domestiques. Les auteurs ont attribué cette augmentation à l'augmentation de l'activité de la moelle osseuse, ainsi que le stress de la gestation. (Makinde et al., 1983). Selon Dellmann et Brown., (1987). le stress de gestation stimule probablement la libération de certains facteurs appelés facteurs d'induction de la leucocytose (LIF) et facteurs stimulant les colonies (CSF) qui augmentent les activités hématopoïétiques et la mobilisation des cellules sanguines.

les paramètres de l'Hémogramme plaquettaire :

La diminution des plaquettes sanguines dans notre expérimentation est en concordance avec les résultats de Merzadeh et al, (2010), BORDJAH S., et al., (2016).

Beaucoup de paramètres hématologiques sont influencés par de nombreux facteurs comme l'espèce, la race, l'âge, le sexe, les variations saisonnières, l'allaitement, la gestation, l'état sanitaire et l'état nutritionnel. Mohammed et al, (2007).

CONCLUSION GENERALE :

Les paramètres hématologiques, tels que les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes, varient pendant les différents trimestres de la gestation chez la brebis. Nos résultats ont montré clairement que les globules blancs, augmentent durant la gestation contrairement aux globules rouges, au taux d'hémoglobine et à l'hématocrite qui ont diminué en s'exprimant avec une **Anémie normocytaire normochrome régénérative** avec une thrombopénie.

Le stade physiologique influence certains paramètres hématologiques soit par leur augmentation ou leur diminution durant la gestation chez les brebis.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- 1) ADENKOLA, A. Y., Ayo, J. O., Sackey, A. K. B., & Adelaiye, A. B. 2009. Haematological and serum biochemical changes in pigs administered with ascorbic acid and transported by road for four hours during the harmattan season. *Journal of cell and Animal Biology*, 3(2), 021-028.
- 2) ADIB Lamiae., 2017. Les différentes techniques d'analyse au Laboratoire d'Hématologie. *Projet de Fin d'Etudes Licence Sciences & Techniques (Sciences Biologiques Appliquées et Santé (LST - SBAS))*.
- 3) ADILI Nezar., 2007. ETUDE MORPHOMETRIQUE DES GLOBULES ROUGES DES RUMINANTS DOMESTIQUES. thèse Pour l'obtention du diplôme de MAGISTER.
- 4) ANGULO J., FLANDRIN G., 2003. Automated detection of working area of peripheral blood smears using mathematical morphology. *Anal cell pathol*, 25: 37-49.
- 5) ANTUNOVIC, Z., Novoselec, J., Šperanda, M., Vegara, M., Pavić, V., Mioč, B., & Djidara, M. 2011. Changes in biochemical and hematological parameters and metabolic hormones in Tsigai ewes blood in the first third of lactation. *Archives Animal Breeding*, 54(5), 535-545.
- 6) ARBOUCHE Yasmine. 2011. Effet de la synchronisation des chaleurs de la brebis Ouled Djellal sur les performances de la reproduction et de la productivité en région semi- aride. Thèse pour l'obtention du diplôme de magister.
- 7) ARCHA B. ; Chentouf M. ; Bister J.L. (2009). Effet du niveau alimentaire sur la saisonnalité de l'activité sexuelle chez la brebis Timahdite : influence de la leptine et du système IGF. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, 62 (1), 67-73.
- 8) AYOUB M. A., El-Khouly A. A. and Mohamed T.M. (2003). Some hematological and biochemical parameter and steroid hormone levels in the one -humped camel during different physiological conditions Veterinary laboratory, Al Ain, United Arab Emirate. *Emir. J. Agric. Sci.* 15(1):44-55.
- 9) AZAB, M. E., & Abdel-Maksoud, H. A. 1999. Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. *Small Ruminant Research*, 34(1), 77-85.
- 10) BACHA.W.J.J et BACHA.L.M (2000) : *Color Atlas of Veterinary Histology*, 2nd. edition. Part 6 : Blood. Lippincott Williams and Wilkins, U.S.A.
- 11) BAMERNY A. O. (2013). Changes in some haemato-biochemical and electrolytes parameters in female Meriz goats during pregnancy and after Parturition. *J. Anim. Sci*, 2(1), 11-14.
- 12) BAUDET A., 2017. DIAGNOSTIC DE GESTATION CHEZ LA BREBIS : DOSAGE DES PROTEINES ASSOCIEES A LA GESTATION DANS LE LAIT PAR METHODE ELISA IDEXX . Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire.
- 13) BENCHERIF S. (2011). L'élevage pastoral et la céréaliculture dans la steppe algérienne Evolution et possibilités de développement. Thèse pour obtenir le grade de Docteur. p 269.
- 14) BENROUAG k et Beddal R., 2018. Effet du stade physiologique sur certains paramètres hémato-biochimiques chez la chèvre Alpine en zonesemi-aride de l'Est algérien. MémoirePrésenté pour l'obtention du diplôme deMASTERFilière: biologie
- 15) BENYOUNES, A., LAMRANI, F., SULON, J., TAHAR, A. et BECKERS, J. F., 2008. Efficacité comparée de deux méthodes de diagnostic précoce de gravidité chez la brebis Ouled Djellal. *European Journal of Scientific Research*. 2008. Vol. 20, n° 2, pp. 362–373.
- 16) BIAGI, G., Bagliacca, M., Leto, A., Romagnoli, A., 1988 : The use of metabolic profile test in a saanen goat herd. *Ann. Fac. Med. Vet. Pisa* XLI, 395-410.
- 17) BONNES, G., DESCLAUDE, J., DROGOU, C., GADOUD, R., JUSSIAU, R., LE LOC'H, A., MONTMEAS, L. et ROBIN, G., 1988. *Reproduction des mammifères d'élevage*. Paris : Editions Foucher.

- 18) BORDJAH Samir., OUAHRANI A Rahim., 2016. Paramètre Hématologiques et Biochimiques durant premier trimestre de la gestation chez la vache. Thèse pour obtenir du diplôme de MASTER biologie et Physiologie Animale Comparé.
- 19) BOUDEBZA A., 2015. ETUDE DE LA RELATION ENTRE LES PARAMÈTRES SANGUINS ET LES PERFORMANCES DE REPRODUCTION CHEZ LA BREBIS. Thèse pour obtenir le diplom de Docteur Vétérinaire.
- 20) BRICE, G., C. Jardon et A. Vallet. 1995. Le point sur la conduite de la reproduction chez les ovins. Eds. Institut de l'élevage, Paris, France. 79 pp.
- 21) CAJA G. ; Gargouri A. (1995). Orientations actuelles de l'alimentation des ovins dans les régions méditerranéennes arides. Options Méditerranéennes., n. 6, 51-64.
- 22) CANFIELD.P.J (1998) : Comparative Cell Morphology in the Peripheral Blood Film From Exotic and Native Animals. Aust. Vet. J, 76 ; 793 – 800.
- 23) CASSELEUX Eric, Grégory, Daniel., 2007. DETERMINATION DES VALEURS USUELLES BIOCHIMIQUES ET HEMATOLOGIQUES DU CHIOT AGE DE ZERO A HUIT SEMAINES. Thèse Pour le DOCTORAT VETERINAIRE.
- 24) CASTONGUAY, F., 2012. *La reproduction chez les ovins* [en ligne]. [Consulté le 9 mai 2017]. Disponible à l'adresse :
http://www.cepoq.com/admin/useruploads/files/la_reproduction_chez_les_ovins_2012.pdf
- 25) CHRISTINE Medaille, Alexandra BRIEND-MARCHAL., 2008. Guide pratique des analyses biologiques vétérinaires.
- 26) CLAUDIA Burz., 2009. Les éléments du système immunitaire Transcription de la présentation. cour dans le site:
<https://www.google.com/url?sa=i&source=images&cd=&ved=2ahUKEwjOnYrRorriAhWF1eAKHbYdAaYQjxx6BAGBEAI&url=https%3A%2F%2Fslideplayer.fr%2Fslide%2F11893317%2F&psig=AOvVaw30EPDZbhZtClxwRUbBoMuj&ust=1558997017993166>
- 27) COGNIE Y., SCHIRAR A., MARTINET J., POULIN N., MIRMAN B. (1984) Activité reproductrice et maîtrise de l'ovulation chez la brebis In : 9^{ème} journée de la recherche ovine et caprine, Paris, 109-133
- 28) CORDONNIER N et Fontaine JJ (2005). Polycopié d'Histologie-Hématologie 2005-2006.
- 29) DEGHNOUCHE K. (2011). Etude de certains paramètres zootechniques et du métabolisme énergétique de la brebis dans les régions arides (Biskra).Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Science. p 234.
- 30) DELABESSE E, J. CORRE, L. YSEBAERT, P. LAHARRAGUE, G. LAURENT., 2010. SEMEIOLOGIE HEMATOLOGIQUE. FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-RANGUEIL.
- 31) DELLMANN H.D. & Brown E.M. 1987. Textbook of Veterinary Histology. 3rd ed. Lea and Febiger, Philadelphia, p.71-95.
- 32) DESCÔTEAUX, L., GNEMMI, G. et COLLOTON, J., 2009. Guide pratique d'échographie pour la reproduction des ruminants. Paris : Editions Méd'Com.
- 33) DIOUF Moussa Ndiaye., 2009. ETUDE DU PROFIL HEMATOLOGIQUE CHEZ LES CHIENS DOMESTIQUES A DAKAR - SENEGAL. thèse pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE (DIPLOME D'ETAT).
- 34) DJALAL A.K. (2011). Elevage ovin périurbain au Tchad : Effet de l'alimentation sur les performances de reproduction et de croissance. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat Unique en Développement Rural. p 129.
- 35) DOMART A., Bourneuf J., 1985. Dictionnaire médicale, éditions Larousse., Paris 2, 995 p.
- 36) Dr Véronique DEMAS ., (Laboratoire d'Hématologie) Hémogramme : Indications et Interprétation cour de biologie Item n° 316 : Argumenter les principales indications de l'hémogramme, discuter l'interprétation des résultats et justifier la démarche diagnostique si nécessaire.
- 37) DUDOUET C., 1996. La production des moutons : 61-109.

- 38) EL AMIRI, B . A. KAREN, Y. COGNIE, N.M. SOUSA, J.L. HORNICK, O. SZENCI, J.F. BECKERS. Diagnostic et suivi de gestation chez la brebis : réalités et perspectives INRA Prod. Anim., 2003, 16 (2), 79-90).
- 39) EL-GHOUL, W., Hofmann, W., Khamis, Y. and Hassanein, A. 2000. Relationship between claw disorders and the periparturient period in dairy cows. Prakt. Tierarzt., 81(10): 862-868.
- 40) ELISE Michaoud (2006). Comparaison des parametres de reproduction de la brebis suffolk selon le mode d'insemination artificielle ou naturelle apres synchronisation des chaleurs. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences vétérinaires
- 41) EL-SHERIF MMA and Assad, 2001 : Change in some blood constituents of Barki ewes during pregnancy and lactation under semi arid conditions. Small Rumi Res, 40: 269-277.
- 42) ELZEIN, E., Osman, I., & Omer, S. A. 2016. Effect of physiological status in some haematological and biochemical parameters in desert goats. International Journal of Veterinary Science, 5(2), 95-98.
- 43) FRENCH T.W., BLUE J.T., STOKOL T., 1997. Hematologie atlas. Cornell University College for veterinary medicine. 137 p.
- 44) GANAIE, B. A., KHAN, M. Z., ISLAM, R., MAKHDOOMI, D. M., QURESHI, S. et WANI, G. M., 2009. Evaluation of different techniques for pregnancy diagnosis in sheep. Small Ruminant Research. 2009. Vol. 85, pp. 135-141.
- 45) GONZÁLEZ DE BULNES, A., SANTIAGO MORENO, J. et LÓPEZ SEBASTIÁN, A., 1998. Estimation of fetal development in Manchega dairy ewes by transrectal ultrasonographic measurements. Small Ruminant Research. 1998. Vol. 27, n° 3, pp. 243-250.
- 46) GROULADE (P.). Atlas d'hématologie et de cytologie du chien et du chat, PMCAC Édition, Paris, 1983.
- 47) GUYTON, A.C., Hall, J.E., 1996. Textbook of Medical Physiology, 9th ed. Saunders, Philadelphia, PA, pp. 168-1036.
- 48) HANNAN K., 2017. Coloration panoptique en hématologie : Etude comparative (Sysmex SP1000 et RAL Stainer). Thèse pour obtenir du diplôme doctorat en pharmacien.
- 49) HARALD THEML, HEINZ DIEM, TORSTEN HAFERLACH. Atlas de poche d'hématologie, 2eme édition, Edition Flammarion, 2006. p09
- 50) HARVEY, JW. The erythrocyte: Physiology, metabolism, and biochemical Disorders. In : Clinical Biochemistry of Domestic Animals. [éd.] Harvey, JW, Bruss, ML, Kaneko, JJ. 5th Edition. San Diego : Academic Press, 1997:157-203.
- 51) HELENE, L'ITALIEN, Roselyne, LORD DUBÉ. *Hématologie*, deuxième édition, Sainte-Foy (Québec), Le Griffon d'argile, 1998, 434 p.
- 52) IBRAHEEM KUTTY, C., 1999. Gynecological examination and pregnancy diagnosis in small ruminants using bimanual palpation technique : A review. Theriogenology. 1999. Vol. 51, n° 8, pp. 1555-1564.
- 53) ISSENMANN H., 2003. Etude hématologique, biochimique et clinique comparative de veaux issus de clonage somatique et de veaux témoins. Thèse Méd. Vét. Alfort n°141 , 100p.
- 54) JAIN N.C., 1986. Schalm's veterinary hematology, 4th Ed. Philadelphia (USA): Lea and Febiger. 1221 p.
- 55) JAIN.N.C 1993 : Essentials of Veterinary Hematology. Edition Lea and Fibiger, Philadelphia, U.S.A.
- 56) KAREN, A., KOVÁCS, P., BECKERS, J. F. et SZENCI, O., 2001. Pregnancy Dagnosis in Sheep: Review of the Most Practical Methods. Acta Veterinaria Brno. 2001. Vol. 70, n° 2, pp. 115–126.
- 57) KERR M.G., 1989. Veterinary laboratory medicine. London (GBR): black. well scientific publications. 270 p.
- 58) KHARCHE, S. D. et KOUAMO, J., 2015. An overview of pregnancy diagnosis in small ruminants. The Indian Journal of Animal Sciences. 2015. Vol. 85, n° 4, pp. 331-342.

- 59) KHIATI Baghdad. (2013). Etude des performances reproductives de la brebis de race rambi. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en biologie
- 60) KOLB, E., 1965. Physiologie des animaux domestiques. Vigot frères, Paris, 918 p.
- 61) KRAMER, JW. Normal Hematology of Cattle, Sheep, and Goats. In :Schalm's Veterinary Hematology. [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition. Blackwell Publishing, 2006:1075-1086.
- 62) KUMAR, R., Sharma, I.J. and Quari, M.A. (2001). Status of haemogram, plasma proteins, minerals and electrolytes during anorexia and sub-clinical ketosis in cows and buffaloes. *Indian J. Anim. Sci.*, 71:118-121.
- 63) LABUSSIÈRE J., 1990. Physiologie de la reproduction des mammifères domestiques et applications zootechniques. Chaire de zootechnique. Renne.
- 64) LANTIS K.L., et al, 2003. Elimination of instrument-driven reflex manual differential leucocyte counts: optimization of manual blood smear review criteria in a high-volume automated hematology laboratory. *Am j Clin. Pathol*, 119(5), 656-662.
- 65) LARKIN H. Laboratory practice. 3. Procuring and handling blood. *Ir. Vet. Jour.* 1984 ; 38 : 159-161.
- 66) LEE, J.; Giordano, S.; Zhang, J. (2012). Autophagy, mitochondria and oxidative stress: cross-talk and redox signalling. *Biochemistry Journal.* 441: 523–540.
- 67) LORD-DUBE H., L'ITALIEN R., 1983. Hématologie. Paris (FRA) : Maloine. 335 p.
- 68) LUSHBAUGH C.C., MADDY J.A. et BASMAN N.J.: Electronic measurement of cellular volumes II- Frequency distribution of erythrocytes volumes. *Blood*, 1962, 20, 241-248.
- 69) M. Sidi SIBY., 2008. ETUDE DE LA VARIATION DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES ET HEMATOLOGIQUES DANS LE DISTRICT DE BAMAKO. Thèse pour obtenir de garde de docteur en Médecine.
- 70) MAKINDE M.O., Durotoye L.A. & Oyewale J.O. 1983. Plasma and blood volume measurements in pregnant and lactating West African Dwarf goats. *Bull. Anim. Hlth Prod.Afr.* 31:287-290.
- 71) MALHEU Julie, Caroline., 2007. ETUDE CLINIQUE, HEMATOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE DE BOVINS ISSUS DE CLONAGE SOMATIQUE ENTRE 4 MOIS ET 24 MOIS Thèse Pour le DOCTORAT VETERINAIRE.
- 72) MAMADOU Bobo SOW., 1991. CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'HEMATOLOGIE DU MOUTON DJALLONKE DANS LA REGION DE KOLDA (Sénégal). Thèse pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE (DIPLOME D'ETAT).
- 73) MANAT, T. D., Chaudhary, S. S., Singh, V. K., Patel, S. B., & Puri, G. 2016. IHematobiochemical profile in Surti goats during post-partum period. *Veterinary world*, 9(1),19.
- 74) MAXIMIN, K., 2010. Hématologie des bovins : Etude des variations de la naissance à 60 jours. thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire.
- 75) MBASSA, G. K., & Poulsen, J. S. 1991. Influence of pregnancy, lactation and environment on haematological profiles in Danish landrace dairy goats (*Capra hircus*) of different parity. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry*, 100(2), 403-412.
- 76) MEKROUD Meriem., 2016. CONTRIBUTION A L'ETUDE DE QUELQUES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES ET IONIQUES CHEZ LE CHEVAL DANS LE NORD DE L'ALGERIE. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences vétérinaires.
- 77) MIRZADEH, K., Tabatabaei, S., Bojarpour, M. and Mamoei, M. (2010). Comparative study of hematological parameters according to strain, age, sex, physiological status and season in Iranian cattle. *J. Anim. Vet. Adv.*, 9: 2123-2127. 2.
- 78) MOHAMMED, A. K., G. Mohammed and O. O. Akerejola. (2007). Haematological and serum biochemical changes in Bunaji work bulls after farmland ridging exercise in Kaduna State, Nigeria. *J. Anim. Vet. Adv.*, 6: 576-579.

- 79) MONTMEAS, L., LEBORGNE, M.C., TANGUY, J-M., FOISSEAU, J-M., SELIN, I., VERGONZANNE, G. et WIMMER, E., 2013. *Reproduction des animaux d'élevage*. 3^o édition. Dijon : Educagri Editions.
- 80) NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Reference Leukocyte Differential Count (Proportional) and Evaluation of Instrumental Methods*, Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, H20-A, 1992, 55 p.
- 81) OLIVEIRA M.G.C., Nunes T.L., Paiva A.L.C., Bezerra T.C.G., Fernandes N.S., Vale A.M., Barrêto Júnior R.A. & Paula V.V. 2012 : Aspectos hematológicos de caprinos (*Capra hircus*) da raça Canindé criados no Rio Grande do Norte. *Pesq. Vet. Bras.* 32(Supl.1): 4-8.
- 82) POSPISIL, J., F. kase, J. vahala 1987. Basic haematological values in the Cameroon goats. *Comp. Biochem. Physiol. A* 88, 451-454.
- 83) POTRON G, CULIOLI – PICKEL B, BECHAR C, DROULE C, N'GUVEN P, ADZIZIAN JC. Automatisation en hématologie. *Encycl. Med chir. (Paris- France)*. Sang, 13000 B 10, 7 – 1990, 19p.
- 84) REDETZKY R, KROMKER V, HAMANN J. Comparison of blood constituent concentrations from the udder and jugular vein of high yielding cows. *Proceedings of the XXII World buiatrics congress*, Hanovre 2002.
- 85) ROBERTSON, H. A., CHAN, J. S. D. et FRIESEN, H. G., 1980. The use of a pregnancy-specific antigen, chorionic somatomammotrophin, as an indicator of pregnancy in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1980. Vol. 58, n° 1, pp. 279-281.
- 86) RULLIER (J.) et PARODI (A.). - Laboratoire et diagnostic en médecine vétérinaire, 1968, Vigot Frères Éditeurs.
- 87) RUMKE C.L., BEZEMER P.D., KUIK D.J., 1975. Normal values and least significant difference for differential for leukocyte counts. *J.chrons DIS*, 28, 661-668.
- 88) SAFSAF B. (2014). Effet de la sous-alimentation sur certains paramètres de reproduction des brebis de race Ouled djellal. Thèse de Doctorat en sciences vétérinaires. Université de Batna. p 216.
- 89) SCHALM OW, FELDMAN BF, ZINKL JG, JAIN NC. *Schalm's veterinary hematology*. 5th ed, 2000. Blackwell scientific editions, 1344p.
- 90) SINGH, R. Singha, S. P. S., Singh, R., Setia, M.S (1991). Distribution of trace elements in blood, plasma and erythrocytes during different stages of gestation in buffalo (*Bubalus Bubalis*). *Buffalo J.* 1: 77-85.
- 91) SIROIS M., 1995. *Veterinary clinical laboratory procedures*. New York (USA): Mosby, 160 p.
- 92) SOUSA, N. M., AYAD, A., BECKERS, J. F. et GAJEWSKI, Z., 2006. Pregnancy-Associated Glycoproteins (PAG) as pregnancy markers in the ruminants. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2006. Vol. 57, n° Supp 8, pp. 153-171.
- 93) STEFFENS.W.L 2000 : Ultrastructural Features of Leukocytes. In : Schalm's Veterinary Hematology, 5th edition. FELDMAN.B.F ; ZINKL.J.G and JAIN.N.C editors. Philadelphia Lippincott, Williams and Wilkins, U.S.A, 326 – 336.
- 94) TAYLOR, M. J., JENKIN, G., ROBINSON, J. S., THORBURN, G. D., FRIESEN, H. et CHAN, J. S. D., 1980. Concentrations of Placental Lactogen in Chronically Catheterized Ewes and Fetuses in Late Pregnancy. *Journal of Endocrinology*. 1980. Vol. 85, n° 1, pp. 27-34.
- 95) THARWAT, M., Ali, A. and Al-Sobayil, F ; 2013. Hematological and biochemical profiles in goats during the transition period. *Comp. Clin. Pathol.*, 24: 1-7.
- 96) THRALL M.A., et al, 2004. *Veterinary hematology and clinical chemistry*, Philadelphia (USA): Lippincott Williams , Wilkins, 518.
- 97) ULLREY DE, Miller ER, Long GH, Vincent BH. (1965). Sheep hematology from birth to maturity. 1. Erythrocyte population, size, and hemoglobin concentration. *J Anim Sci* 24:134-140.

- 98) WATT, B. R., ANDERSON, G. A. et CAMPBELL, I. P., 1984. A comparison of six methods used for detecting pregnancy in sheep. *Australian Veterinary Journal*. 1984. Vol. 61, n° 12, pp. 377-382.
- 99) WINTROBE M.M et al, 1981. *Clinical hematology*, 8th Ed. Philadelphia. (USA): Lea and Febiger. 1181p.
- 100) WORSFOLD, A. I., CHAMINGS, R. J. et BOOTH, J. M., 1986. Measurement of oestrone sulphate in sheep plasma as a possible indicator of pregnancy and the number of viable fetuses present. *British Veterinary Journal*. 1986. Vol. 142, n° 2, pp. 195-197.