

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



جامعة ابن خلدون تيارت  
UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET  
معهد علوم البيطرة  
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES  
قسم الصحة الحيوانية  
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE



## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master complémentaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Vétérinaires

Présenté par: M<sup>elle</sup> CHERIET Halima  
M<sup>elle</sup> BERBARA Hadjira

Thème

**ETUDE DE QUELQUES PARAMETRES  
HEMATOLOGIQUES CHEZ DES BREBIS  
DE LA RACE LOCALE DANS  
LA REGION DE TIARET**

**Jury**

**Grade**

**Présidents : CHIKHAOUI Mira**

**MCA**

**Encadreur : SMAIL Fadhéla**

**MCB**

**Co-Encadreur: AICHE Souad**

**Doctorante**

**Examineur I: BOURABAH Akila**

**MCA**

**Examineur II: HEMIDA Houari**

**MCA**

**Année universitaire 2018/2019**

# Remerciements

*A Allah*

*Tout puissant*

*Qui nous a inspiré*

*Qui nous a guidées dans le bon chemin*

*Nous vous devons ce que nous sommes devenues*

*Louanges et remerciements*

*Pour votre clémence et miséricorde.*

*A notre encadreur de mémoire Madame **Smail Fadhéla***

*Vous nous avez accordé un immense honneur et un grand privilège en acceptant la présidence de notre jury de mémoire. Nous vous remercions aussi pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail.*

*Nous vous prions, cher Maître, d'accepter dans ce travail le témoignage de notre haute considération, de notre profonde reconnaissance et de notre sincère respect.*

*A notre Co-encadreur Melle **Aiche Souad***

*Qui nous a aidées et guidées dans l'élaboration de ce travail Pour sa disponibilité, le temps qu'elle consacré pour nous, son enseignement, ses conseils, sa sympathie et sa patience*

*Au Responsable de la Bergerie sanitaire de l'Institut des Sciences vétérinaires de Tiaret*

*Mr **Aouraie Djilali***

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

# DEDICACES

*Je dédie ce travail...*

## *A mon cher père*

*Ahmad qui a voulu me voir réussir.*

*Merci infiniment pour tout ton dévouement et pour les sacrifices que tu t'es imposé pour m'assurer la belle vie et la réussite.*

## *A toi ma très chère mère*

*Fatima source du plus précieux soutien, ta bonté et ta précieuse tendresse, je te témoigne respectueusement ma reconnaissance et ma gratitude pour tout ce que tu as fait pour moi depuis ma naissance.*

## *A mes frères et sœurs*

*Imad et Mohammad, Faysal, Habibe, Mohammad, Aboubakre,  
Hamida, Lynda, Nadya et Djimo.*

*Et leurs enfants : Aridj, Kacem, Mahmoud, Tamara, Youcef, Meriem,  
Norhen, Faress et Hiba*

## *A toute la famille BERBARA*

## *A mes amies*

*Halima, Nadhira, Aldja, Loubna, Soumia, Souad, Souhila, Widad,  
Fatiha, Hafidh, Bendhiba*

*A toute personne qui m'a aidée.*

**BERBARA HADJIRA**

# DEDICACES

## *A mes très chers parents*

*Aucune expression, ni aucune dédicace ne pourrait exprimer mes meilleures reconnaissances.*

*Vous avez guidé mes premiers pas, et vous étiez toujours une source intarissable d'amour et de sacrifice.*

*J'espère réaliser en ce jour un de vos rêves, et être digne, durant toute ma vie personnelle et professionnelle, de votre éducation et de votre confiance.*

*Puisse Dieu vous protéger, vous accorder santé et longue vie.*

## *A mes frères et sœurs*

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

## *A Toute la famille CHERJET*

### *A mes très chères amies*

*Khalida, Ouahiba, Amina, Hadjira*

*A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.*

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

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

*A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail*

**CHERJET HALIMA**

## SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES FIGURES.....I

LISTE DES TABLEAUX .....II

LISTE DES ABREVIATIONS.....III

INTRODUCTION .....1

### PARTIE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### CHAPITRE I. PHYSIOLOGIE DU SANG CHEZ LES OVINS

I.1. COMPOSITION DU SANG .....2

I.1.1 LES DIFFERENTS ELEMENTS DU SANG .....2

I.1.1.1 ERYTHROCYTES.....3

I.1.1.1.1 L'HEMOGLOBINE.....3

I.1.1.2 LES PLAQUETTES .....3

I.1.1.3 LES LEUCOCYTES.....4

A.1 LES POLYNUCLEAIRES NEUTROPHILES .....4

A.2 LES POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES .....5

A.3 LES POLYNUCLEAIRES BASOPHILES .....6

B. LES MONONUCLEAIRES .....6

B.1 LES MONOCYTES.....7

B.2 LES LYMPHOCYTES.....7

B.2.1 LES LYMPHOCYTES T .....8

B.2.2 LES LYMPHOCYTES B .....8

## CHAPITRE II. HEMATOLOGIE CELLULAIRE

<b>II.1 METHODES D'ANALYSE ET LES AUTOMATES UTILISES EN HEMATOLOGIE.....</b>	<b>9</b>
<b>II. 1.1 METHODE AUTOMATISEE = HEMOGRAMME (NFS) .....</b>	<b>9</b>
<b>II. 1.1.1 ERYTHROGRAMME = MESURE DES PARAMETRES DE LA LIGNEE ROUGE .....</b>	<b>10</b>
<b>II. 1.1.1.1 HEMATOCRITE .....</b>	<b>10</b>
<b>II. 1.1.1.2 TAUX D'HEMOGLOBINE.....</b>	<b>10</b>
<b>II.1.1.1.3 NUMERATION DES GLOBULES ROUGES .....</b>	<b>10</b>
<b>II.1.1.1.4 INDICES ERYTHROCYTAIRES DE WINTROBE .....</b>	<b>11</b>
<b>II.1.1.1.5 L'INDICE DE DISTRIBUTION DES ROUGES .....</b>	<b>11</b>
<b>II.1.1.2 LEUCOGRAMME = MESURE DES PARAMETRES DE LA LIGNEE BLANCHE .....</b>	<b>11</b>
<b>II.1.1.2.1 NUMERATION LEUCOCYTAIRE TOTALE .....</b>	<b>11</b>
<b>II.1.1.2.2 FORMULE LEUCOCYTAIRE .....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.1.3 THROMBOGRAMME = MESURE DES PARAMETRES DE LA LIGNEE PLAQUETTAIRE .....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.1.3.1 NUMERATION PLAQUETTAIRE.....</b>	<b>13</b>
<b>II.1.1.3.2 VOLUME PLAQUETTAIRE MOYEN : VPM .....</b>	<b>13</b>
<b>II.1.1.3.3 THROMBOCRITE : THT .....</b>	<b>13</b>
<b>II.1.2 LA METHODE NON AUTOMATISEE =L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DU FROTTIS .....</b>	<b>14</b>

## PARTIE II. ETUDE EXPERIMENTALE

### CHAPITRE III. MATERIELS ET METHODES

<b>III.1 OBJECTIFS.....</b>	<b>21</b>
<b>III.2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>22</b>
<b>III.3 ZONE D'ETUDE (WILAYA DE TIARET).....</b>	<b>23</b>
<b>III.4 LES ANIMAUX .....</b>	<b>23</b>

<b>III.5 PRELEVEMENT SANGUIN .....</b>	<b>24</b>
<b>III.6 ANALYSES HEMATOLOGIQUES.....</b>	<b>24</b>
<b>III.6.1 FROTTIS SANGUINS .....</b>	<b>24</b>
<b>III.6.1.1 PREPARATION D'UN FROTTIS SANGUIN .....</b>	<b>24</b>
<b>III.6.1.2 COLORATION DES FROTTIS SANGUINS .....</b>	<b>25</b>
<b>CHAPITRE IV. RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
<b>IV.1 RESULTATS .....</b>	<b>26</b>
<b>IV.1.1 VARIATIONS DES MOYENNES GB ET LES DIFFERENTS TYPES DES LEUCOCYTES CHEZ DES BREBIS NON GESTANTES ET DES BREBIS EN FIN DE GESTATION. ....</b>	<b>27</b>
<b>IV.1.2 VARIATIONS DES MOYENNES DES GR CHEZ DES BREBIS NON GESTANTES ET DES BREBIS GESTANTES EN DERNIER TIERS. ....</b>	<b>29</b>
<b>IV.1.3 VARIATIONS DES MOYENNES DES Hb CHEZ DES BREBIS NON GESTANTES ET DES BREBIS GESTANTES EN DERNIER TIERS.....</b>	<b>30</b>
<b>IV.1.4 VARIATIONS DES MOYENNES DES HT CHEZ DES BREBIS NON GESTANTES ET DES BREBIS GESTANTES EN DERNIER TIERS.....</b>	<b>31</b>
<b>IV.1.5 VARIATIONS DES MOYENNES DES VGM CHEZ DES BREBIS NON GESTANTES ET GESTANTES EN DERNIER TIERS. ....</b>	<b>32</b>
<b>IV.1.6 VARIATIONS DES MOYENNES DES CCMH CHEZ DES BREBIS NON GESTANTES ET GESTANTES EN DERNIER TIERS. ....</b>	<b>33</b>
<b>IV.1.7 VARIATIONS DES MOYENNES DES PLAQUETTES CHEZ DES BREBIS NON GESTANTES ET GESTANTES EN DERNIER TIERS. ....</b>	<b>34</b>
<b>IV.2 DISCUSSION .....</b>	<b>35</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>38</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>RESUME</b>	
<b>ANNEXES</b>	

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Aspect morphologique des plaquettes (Adib, 2017).....	3
<b>Figure 2.</b> PNN mature (à droite) (D'après Pathologie du bétail, in thèse de Maximin 2010). .....	4
<b>Figure 3.</b> Polynucléaire éosinophile (D'après Pathologie du bétail, in thèse de Maximin 2010).....	5
<b>Figure 4.</b> Aspect morphologique d'un polynucléaire basophile (Adib, 2017).....	6
<b>Figure 5.</b> Aspect morphologique d'un monocyte (Adib, 2017).....	7
<b>Figure 6.</b> Aspect morphologique d'un lymphocyte (Adib, 2017).....	8
<b>Figure 7.</b> Tubes de prélèvement (EDTA).....	9
<b>Figure 8.</b> Schéma de la technique de réalisation d'un frottis (National committee, 1992). .....	15
<b>Figure 9.</b> Exemples de frottis non acceptés, associés aux erreurs de réalisation les plus communes (Hélène et al ; 1992).....	17
<b>Figure 10.</b> Représentation schématique d'un frottis sanguin sur une lame de verre (French et al ; 1997).....	18
<b>Figure 11.</b> Les trois méthodes de créneaux (Lord et al ; 1983).....	19
<b>Figure 12.</b> Brebis de race locale .....	22
<b>Figure 13.</b> Schéma récapitulatif de protocole expérimental. ....	23
<b>Figure 14.</b> Variations des moyennes des globules blancs chez les brebis de race locale non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.....	27
<b>Figure 15.</b> Variations des moyennes des différents types de leucocytes chez des brebis de race locale non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers .....	28
<b>Figure 16.</b> Variations des moyennes des GR chez des brebis de race locale non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers. ....	29



<b>Figure17.</b> Variations des moyennes d'hémoglobine chez des brebis de race locale non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.....	<b>30</b>
<b>Figure18.</b> Variations des valeurs moyennes d'Ht chez des brebis de race locale non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers. ....	<b>31</b>
<b>Figure19.</b> Variations des valeurs moyennes de VGM chez des brebis de race locale non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.....	<b>32</b>
<b>Figure 20.</b> Variations des valeurs moyennes de CCMH chez des brebis de race locale non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers .....	<b>33</b>
<b>Figure 21.</b> Variations des valeurs moyennes des plaquettes chez des brebis de race locale non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.....	<b>34</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Les normes hématologiques chez les ovins (d'après Schalm, 2010). .....	13
<b>Tableau 2.</b> Variations des paramètres hématologiques chez des brebis gestantes de race locale.....	26

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>µl:</b>	Microlitre.
<b>µm:</b>	Micromètre.
<b>µm<sup>3</sup>:</b>	Micromètre cube.
<b>ADN:</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ARN :</b>	Acide ribonucléique.
<b>Baso :</b>	Basophiles.
<b>CCMH:</b>	Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.
<b>EDTA:</b>	Ethylene Diamine Tetra acetic Acid.
<b>Eos :</b>	Eosinophiles.
<b>Fl :</b>	Femto Litre.
<b>g :</b>	Gramme.
<b>GB :</b>	Leucocytes= Globules Blancs.
<b>GR :</b>	globule rouge.
<b>Hb :</b>	hémoglobine.
<b>Ht :</b>	hématocrite.
<b>IDP :</b>	Indice de distribution des plaquettes.
<b>IDR:</b>	Indice de distribution des rouges.
<b>Lym:</b>	Lymphocytes.
<b>MGG:</b>	May Grünwald Giemsa.
<b>ml:</b>	Millilitre.
<b>Mono:</b>	Monocytes.
<b>Neu :</b>	Neutrophiles.
<b>NFS:</b>	La numération formule sanguine.
<b>Pg :</b>	Pico gramme.

<b>Pla:</b>	Plaquettes.
<b>PNB:</b>	Polynucléaires basophiles.
<b>PNE:</b>	Polynucléaires éosinophiles.
<b>PNN:</b>	Polynucléaires neutrophiles.
<b>TGMH:</b>	Taux globulaire moyen en hémoglobine.
<b>THT:</b>	Thrombocyte.
<b>UBT :</b>	Unité de bétail total
<b>VGM:</b>	Volume globulaire moyen.
<b>VPM:</b>	Volume plaquettaire moyen.
<b>µg:</b>	Micro gramme.

# *INTRODUCTION*

## INTRODUCTION

L'Algérie est un pays riche en ressources animales, en particulier en ruminants. Ces derniers contribuent d'une façon importante au secteur économique commercial surtout à travers la production de viandes rouges. Le cheptel national, tous types confondus, dépasse les 34 millions de têtes ; il est fait état de 27 807 700 têtes rien que pour l'espèce ovine. L'élevage ovin représente près de 80% de l'effectif total exprimé en UBT (MADR/DSASI, 2014).

Plusieurs paramètres hématologiques peuvent être utilisés pour la détection de différentes troubles qui entraînent des pertes économiques importantes telles que la réduction des performances de production et reproduction des animaux (Al- Hadithy *et al*, 2014), certaines modifications d'état de santé, et du statut physiologique de l'animal (Badawi *et al*, 2014).

La connaissance des valeurs sanguines de base aide le vétérinaire dans le diagnostic, le pronostic, ainsi que dans les traitements utilisés pour l'amélioration de la production, et la reproduction des brebis (Roubies *et al*, 2006).

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

Nous présentons, dans ce document, deux parties, la première comportant deux chapitres concernant la physiologie du sang et l'hématologie cellulaire chez les ovins, et la deuxième partie (partie expérimentale) traite les résultats des paramètres hématologiques chez des brebis réparties en 2 lots (gestantes et non gestantes).

De ce fait, cette étude a pour objectif d'évaluer le profil hématologique chez les brebis de la race locale, avec une analyse hématologique comparative entre des brebis non gestantes et des brebis en fin de gestation.

*Partie I*

*Etude Bibliographique*

# *Chapitre I*

*PHYSIOLOGIE DU SANG*

*CHEZ LES OVINS*



## I. PHYSIOLOGIE DU SANG CHEZ LES OVINS

Le sang, du latin "sanguis", est un liquide rouge qui circule dans les veines, les artères et les capillaires de l'organisme (Mamadou, 1991). Le sang est un tissu conjonctif constitué de plusieurs types cellulaires reposant sur une matrice liquide de nature essentiellement protéique (Maximin, 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, 1991).

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 (Mamadou, 1991 et Maximin, 2010).
- 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, 1991 et Maximin, 2010).

### I.1. Composition du sang

#### I.1.1 Les différents éléments du sang

Les cellules du sang sont pour la plupart d'entre elles des cellules très différenciées, fonctionnelles. Elles proviennent de l'hématopoïèse qui s'effectue dans la moelle osseuse (Houwen, 2002).

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

### I.1.1.1 Erythrocytes

Ce terme spécifique est composé des deux mots grecs « erythros » (rouge) et « cytos » (cellule). Les érythrocytes ou les hématies sont communément appelées les globules rouges.

Les hématies sont des cellules anucléées. Elles donnent la couleur du sang de par l'hémoglobine qu'elles contiennent. Elles ont pour rôle essentiel le transport de l'oxygène. Ce sont les cellules les plus nombreuses du sang. Leur durée de vie est de 120 jours (Mccall et al, 1993).

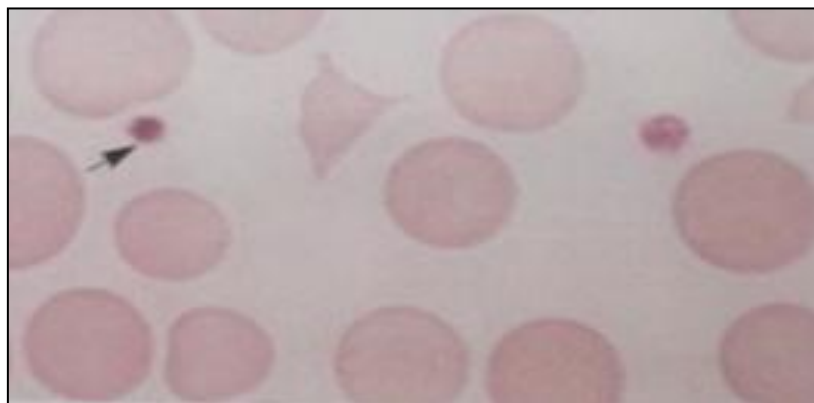
#### I.1.1.1.1 L'hémoglobine

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

L'hème contient un atome de fer qui interagit avec l'oxygène. Le métabolisme érythrocytaire maintient le fer à l'état ferreux lui permettant de fixer l'oxygène. Le fait que l'hémoglobine soit contenue dans une cellule lui permet d'avoir un meilleur temps de demi-vie par rapport à une libre circulation dans le sang (Harvey, 1997).

### I.1.1.2 Les plaquettes

Il existe une controverse à savoir si les plaquettes sont des cellules ou simplement des fragments de cellules. Néanmoins, ces éléments sanguins jouent un rôle très important dans l'intégrité vasculaire et dans le maintien de l'homéostasie (Archer, 1977). Leur durée de vie est d'environ 10 jours (Kramer, 2006).



**Figure 1.** Aspect morphologique des plaquettes (Adib, 2017).

### I.1.1.3 Les leucocytes

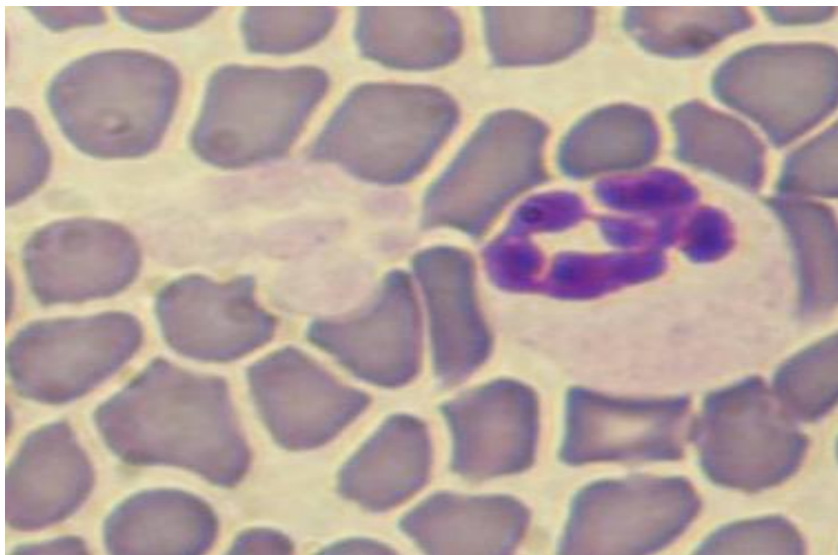
Les leucocytes ou globules blancs constituent la 2ème catégorie de cellules observées sur un frottis sanguin. On en distingue deux types : les polynucléaires et les cellules mononuclées. Les polynucléaires ont un noyau à plusieurs lobes. Il en existe trois sous-types : les polynucléaires neutrophiles (PNN), les polynucléaires éosinophiles (PNE) et les polynucléaires basophiles (PNB).

Les cellules mononuclées qui sont les lymphocytes et les monocytes. : (Mccall et al, 1993).

#### A.1 Les polynucléaires neutrophiles

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

Ces cellules possèdent une forte activité phagocytaire surtout lors d'infection bactérienne (Archer, 1977). Les granules neutrophiles jouent un rôle important dans la défense antibactérienne. La phagocytose et les voies oxydatives sont les fonctions les plus importantes et essentielles dans l'élimination des bactéries invasives (Kampen, 2006).

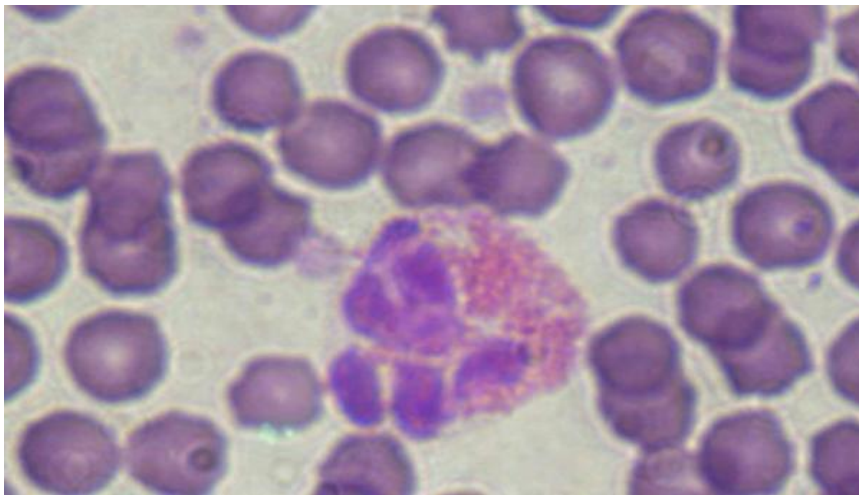


**Figure 2.** PNN mature (à droite) (D'après Pathologie du bétail, in thèse de Maximin 2010)

## A.2 Les polynucléaires éosinophiles

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

Le terme éosinophile - qui aime l'éosine -est lié au caractère basique de ce type de polynucléaires. Ces cellules sont plus facilement reconnaissables que les PNN au microscope optique. Leurs granules vont attirer l'éosine et les PNE ont une couleur qui varie du rouge orangé au rose (Stockham et al, 2002). La présence de PNE en grande quantité dans le sang est associée à des conditions particulières d'état de l'organisme. Ces cellules peuvent persister jusqu'à 6 jours dans les tissus mais ne circulent que quelques heures dans le sang (Young, 2006).



**Figure 3.** Polynucléaire éosinophile (D'après Pathologie du bétail, in thèse de Maximin 2010)

Le nombre d'éosinophiles augmente lors de la libération de l'histamine, qui attire ces cellules par chimiotactisme. Ils peuvent aussi être attirés par un autre médiateur chimique lorsque l'histamine est déjà libérée en masse dans les tissus (Archer, 1977). Le rôle principal des éosinophiles est de limiter et de modifier les effets attribués à la libération de facteurs inflammatoires et allergiques (histamine, bradykinine...) (Jain, 1993).

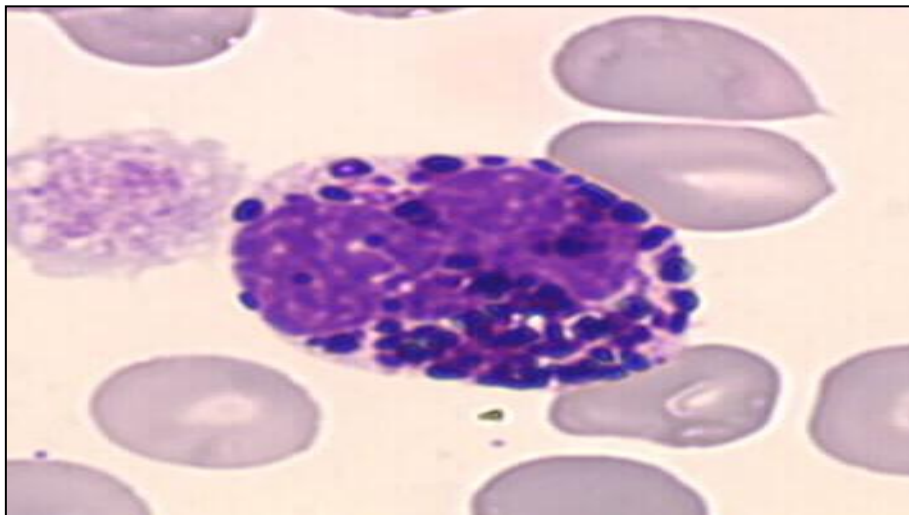
Leur rôle antiparasitaire contre les helminthes est aussi connu (Young, 2006). Les PNE participe aussi à la coagulation et la fibrinolyse par l'activation respectivement du facteur XII et du plasminogène. Cependant, les éosinophiles peuvent causer (tout comme les neutrophiles) des dégâts tissulaires,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

### A.3 Les polynucléaires basophiles

Les basophiles est le troisième granulocyte visible dans le sang périphérique circulant. Le terme basophile - qui aime les bases (Maximin, 2010). Sont toujours les polynucléaires les plus rares dans le sang, mesurent entre 10 – 14 mm. (Steffens, 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 (Jain, 1993); (Bacha, 2000); (Schalm et al, 2000 et Steffens, 2000).

Les basophiles sont de structure globalement comparable à celle des polynucléaires neutrophiles et voisine de celle du mastocyte : histamine, leucotriène (Bordjah 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 et al., 2000). Leur fonction est quasi similaire à celle des mastocytes car ces cellules possèdent des similarités dans leurs constituants biochimiques. (Maximin, 2010).



**Figure 4.** Aspect morphologique d'un polynucléaire basophile (Adib, 2017).

### B. Les mononucléaires

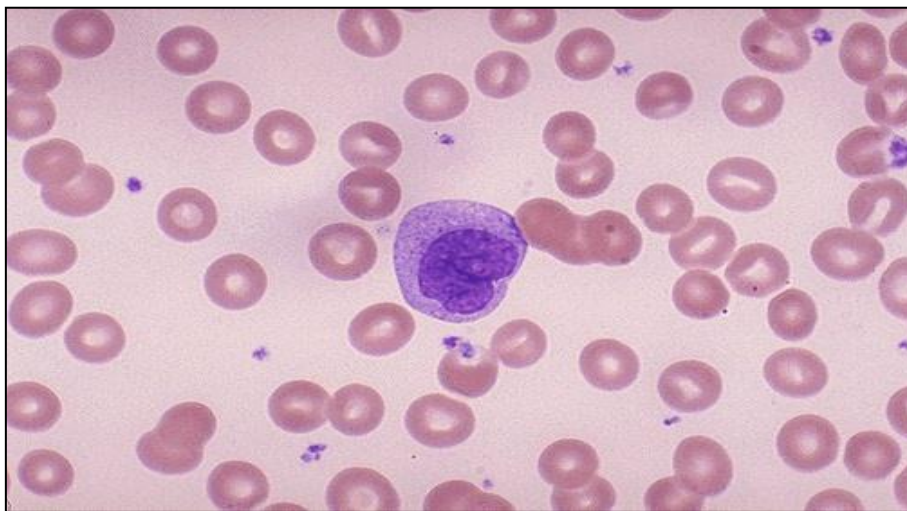
Les mononucléaires sont des cellules à cytoplasme pourvues de quelques granulations aurophiles et un noyau non lobé, on distingue deux types cellulaires : les monocytes et les lymphocytes (comprend les macrophages et les cellules présentatrices

d'antigènes) (Bacha, 2000). Leur noyau est simple et non segmenté. Leur cytoplasme peut contenir des granules mais en quantité moins importante que les granulocytes.

### B.1 Les monocytes

Les monocytes ont la plus grande taille des globules blancs circulants dans le sang et mesurent entre 13 – 19 mm. (Bacha, 2000 et Kramer, 2006). Ils possèdent un noyau volumineux qui peut prendre différentes formes : bilobé, réniforme, en forme de fer à cheval de haricot, de S ou ovoïde (Bacha, 2000). Un cytoplasme gris-bleu et contient des granulations. Sa fonction principale est la phagocytose (Adib, 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, 2010 et Bordjah et al, 2016).



**Figure 5.** Aspect morphologique d'un monocyte (Adib, 2017).

### B.2 Les lymphocytes

Les lymphocytes sont les leucocytes mononuclées 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, 1998).

Les lymphocytes sont des cellules qui réagissent de manière spécifique face à l'antigène. (Bordjah et al, 2016). Se différencient des autres globules blancs principalement

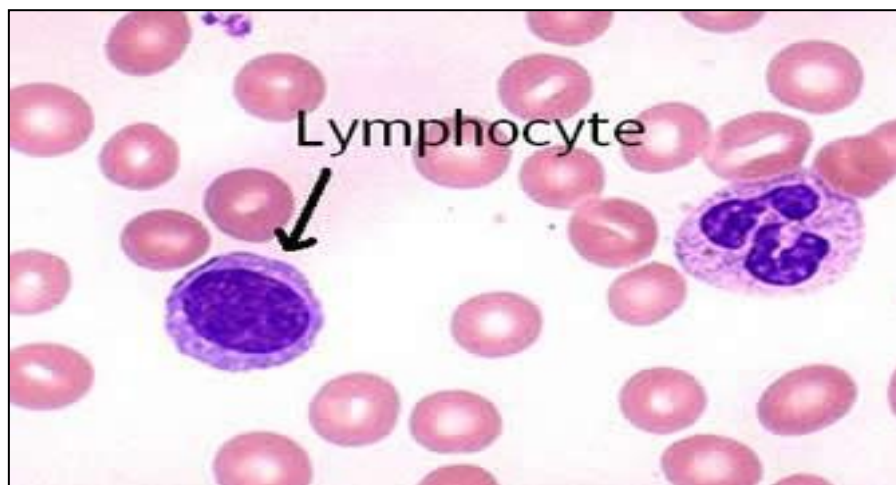
dans leur lieu de synthèse. En effet, les lymphocytes ne sont pas formés dans la moelle osseuse, mais dans les organes lymphoïdes tels les ganglions, la rate et les formations lymphoïdes du tube digestif (amygdales, appendice et plaques de Peyer). Il existe deux populations : les lymphocytes B à vie courte, et les lymphocytes T à vie longue (Domart et al, 1985).

Il existe deux types principaux de lymphocytes :

**B.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 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 et al, 1985).

**B.2.2 Les lymphocytes B** : sont à l'origine de la réponse immunitaire à médiation humorale ; ils produisent les anticorps (Bordjah et al, 2016) qui peuvent se différencier en lymphocytes B à mémoire et en plasmocytes sécrétant alors les anticorps (Steffens, 2000).



**Figure 6.** Aspect morphologique d'un lymphocyte (Adib, 2017).

# *Chapitre II*

## *HEMATOLOGIE CELLULAIRE*



## II. 1 METHODES D'ANALYSE ET LES AUTOMATES UTILISES EN HEMATOLOGIE

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

### II. 1.1 Méthode automatisée = Hémogramme (NFS)

C'est l'étude quantitative et qualitative des éléments figurés du sang. Le prélèvement est effectué sur tube 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, 1984 et Schalm et al, 2000).



**Figure 7.** Tube de prélèvement EDTA.

### II. 1.1.1 Erythrogramme = mesure des paramètres de la lignée rouge

Un système international d'unités a été adopté en 1960 pour limiter les confusions concernant l'interprétation des résultats entre les différents laboratoires (Jeffcott, 1977). Ces unités ont été reprises par la suite et mises à jour (Stockham et al., 2008). Les unités que nous allons citer sont celles les plus communément utilisées. Si elles ne correspondent pas aux unités établies d'après le système international d'unités (SI), ces dernières seront alors notées entre parenthèse.

Les paramètres utilisés pour l'érythrogramme sont l'hématocrite, le taux d'hémoglobine la numération des globules rouges et l'indice de distribution des rouges (IDR).

#### II. 1.1.1.1 Hématocrite

L'hématocrite correspond à la contraction d'*hemato-* (sang) et de *-crite* (séparation). Quand il a été décrit la première fois, le terme d'hématocrite était le nom de la procédure pour séparer le sang en ses composants majeurs : les érythrocytes empilés, la couche du buffycoat et le plasma. La couche du buffycoat correspond à un ensemble de différentes cellules : les plaquettes, les lymphocytes les monocytes, les éosinophiles, les neutrophiles, les basophiles et les érythrocytes nucléés. Aujourd'hui, l'hématocrite est l'équivalent du volume occupé par les cellules sanguines circulantes (essentiellement les érythrocytes) par rapport à un volume donné de sang (Maximin, 2010).

#### II. 1.1.1.2 Taux d'hémoglobine

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

#### II.1.1.1.3 Numération des globules rouges

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

#### **II.1.1.1.4 Indices érythrocytaires de Wintrobe**

Le volume globulaire moyen (VGM), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) sont utilisés afin de caractériser les érythrocytes circulants dans le sang périphérique (Maximin, 2010).

$$\checkmark \text{VGM} = \text{Ht} / \text{nombre de GR (en millions)}$$

Il est exprimé en femto litre (fL) ou en microns cube ( $\mu\text{m}^3$ )

$$\checkmark \text{TCMH} = \text{Hb} / \text{nombre de GR (en millions)}$$

Il est exprimé en pico gramme (pg)

$$\checkmark \text{CCMH} = \text{Hb} / \text{Ht} \times 100$$

Il est exprimé en pourcentage (Willard, 1993)

#### **II.1.1.1.5 Indice de distribution des rouges**

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

#### **II.1.1.2 Leucogramme = mesure des paramètres de la lignée blanche**

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

##### **II.1.1.2.1 Numération leucocytaire totale**

Selon les méthodes d'analyse, la numération leucocytaire totale correspond en réalité à la concentration totale en cellules nucléées. De ce fait, il faut faire attention à ce qu'il n'y ait pas d'érythrocytes nucléés dans le prélèvement sinon les mesures sont faussées. La lecture du frottis reste encore utile pour vérifier la présence ou non d'érythrocytes nucléés. Si cette présence est vérifiée, il faut faire un calcul de correction.

### II.1.1.2.2 Formule leucocytaire

Elle est en général obtenue par le comptage de 100 leucocytes ou plus sur un frottis sanguin.

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

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

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

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

### II.1.1.3 Thrombogramme = mesure des paramètres de la lignée plaquettaire

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

### II.1.1.3.1 Numération plaquettaire

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

### II.1.1.3.2 Volume plaquettaire moyen : VPM

Tout comme le VGM il s'exprime en fl ou en  $\mu\text{m}^3$ . Cependant, le VPM reste une moyenne.

Certaines plaquettes peuvent être observées au microscope tout en étant exclues dans l'analyse par un automate. En effet, les plaquettes trop petites ou trop grandes ne sont pas comprises dans la fourchette des valeurs de références du VPM. D'autre part, certaines grandes plaquettes peuvent être confondues avec des érythrocytes et réciproquement certains petits globules rouges peuvent être confondus avec des plaquettes (Stockham et al, 2002).

### II.1.1.3.3 Thrombocrite : THT

Il est exprimé en % ou en l/l. En général sa valeur reste inférieure à 1%. Les valeurs de références du thrombocrite sont devenues fiables avec l'arrivée de nouveaux automates d'analyse au milieu des années 2000. Le thrombocrite est calculé à partir du VPM et de la numération plaquettaire. De ce fait, une erreur de comptage plaquettaire due à la présence de petites ou grandes plaquettes peut modifier le thrombocrite (Stockham et al, 2008).

**Tableau 1.** Les normes hématologiques chez les ovins (D'après Schalm, 2010).

Paramètres	Valeurs usuelles
GR ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	12
Hb (g/dl)	11,5
Ht (%)	45
VGM (fL)	34
CCMH (%)	32,5
GB ( $/\mu\text{L}$ )	12000
Neutrophiles	2400
Basophiles	50
Eosinophiles	400
Lymphocytes	5000
Monocytes	2000
Plaquettes ( $\times 10^3$ )	500

### II.1.2 Méthode non automatisée =l'examen microscopique du frottis

Cet examen doit toujours être réalisé en médecine vétérinaire même si l'automate d'analyse utilisé donne directement la formule leucocytaire. La lecture s'effectue sur la zone où les cellules sont réparties de façon monocouche. C'est une zone où les cellules ne se superposent pas, où elles ne se touchent pas ou à peine et où les différents leucocytes sont parfaitement distinguables.

#### A.Principes de base

Le frottis permet de disperser les éléments sanguins selon leur masse et leur composition.

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

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 et al, 2006), il permet :

L'étude morphologique de globules rouges (taille, forme, coloration, inclusions), la 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, 2009 et Harald et al, 2006).

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

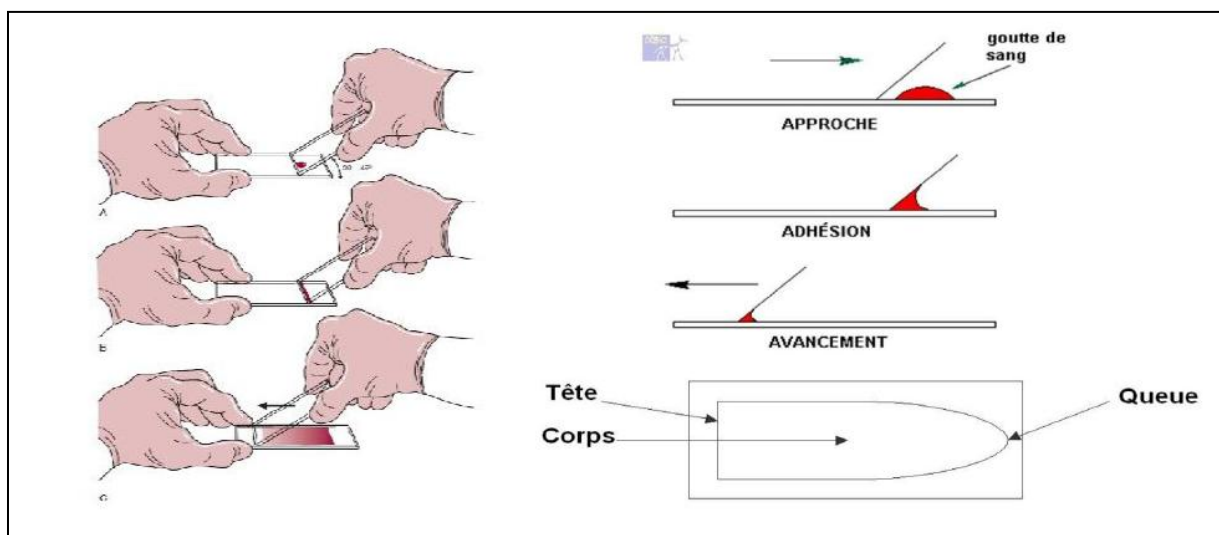
figurés du sang, et de déterminer s'il y a anomalies de présence, d'aspect ou de nombre de cellules (Hannan, 2017).

## B. 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 et al., 2006).

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.

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  $45^\circ$ , 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, 2017 ; Diouf, 2009 et Hannan, 2017).



**Figure 8.** Schéma de la technique de réalisation d'un frottis (National committee, 1992).

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, 2009)

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.

### **C. Coloration de May-Grünwald-Giemsa**

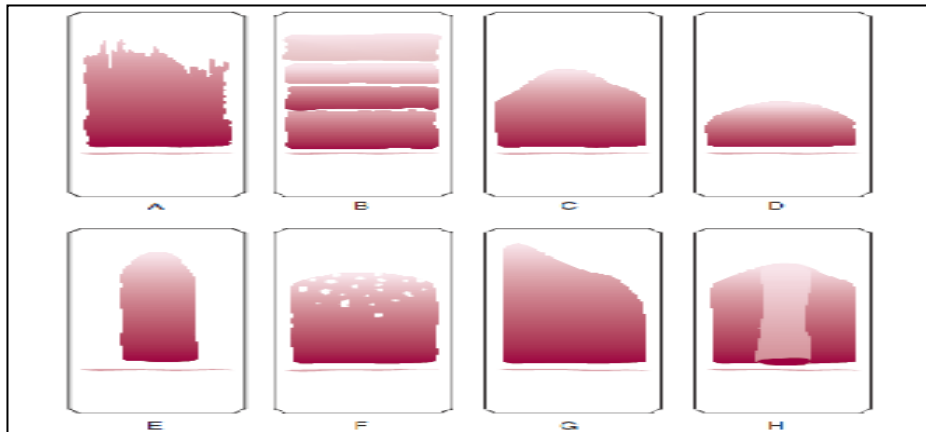
La lame du frottis est placée sur un support horizontal au-dessus d'un bac de coloration. On verse sur la lame 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur de façon à recouvrir complètement le frottis. Laisser agir 3 minutes. Ajouter autant de gouttes d'eau neutre que de gouttes de colorant. Le mélange doit être rapide. Laisser agir 2 minutes. Pendant ce temps, on prépare la dilution du Giemsa : pour cela introduire 20 cm<sup>3</sup> d'eau neutre dans une éprouvette graduée, ajouter 30 gouttes de colorant de telle manière que celui-ci reste à la surface de l'eau neutre. Verser le contenu de l'éprouvette dans une boîte de Laveran. Dès que la lame est prête, mélanger en agitant doucement (le pouvoir colorant est maximum au moment du mélange).

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 :

- 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.
- Un frottis trop rouge suite à une coloration insuffisante, un lavage ou un rinçage excessif ou à un colorant trop acide.
- Un frottis terne, brunis ou verdâtre qui est dû à un vieillissement du frottis (après un mois) (Diouf, 2009).





**Figure 9.** Exemples de frottis non acceptés, associés aux erreurs de réalisation les plus communes (Hélène et al, 1992).

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).

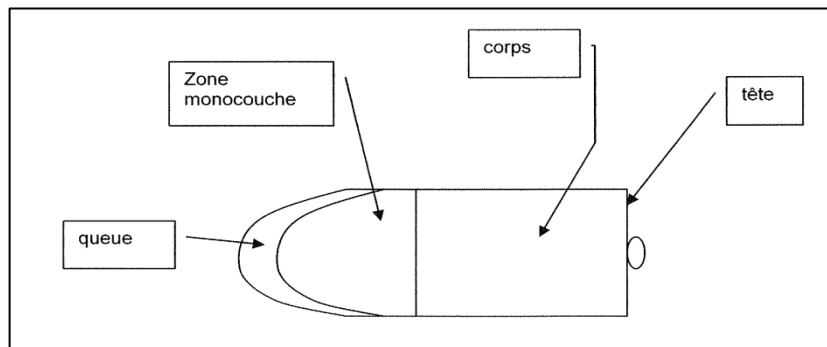
❖ Lecture du frottis sanguin :

✓ **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 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 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, 1995).



**Figure 10.** Représentation schématique d'un frottis sanguin sur une lame de verre (French et al, 1997).

#### D. 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 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 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, 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.

##### D.1 Nombre de cellules nécessaires pour le comptage

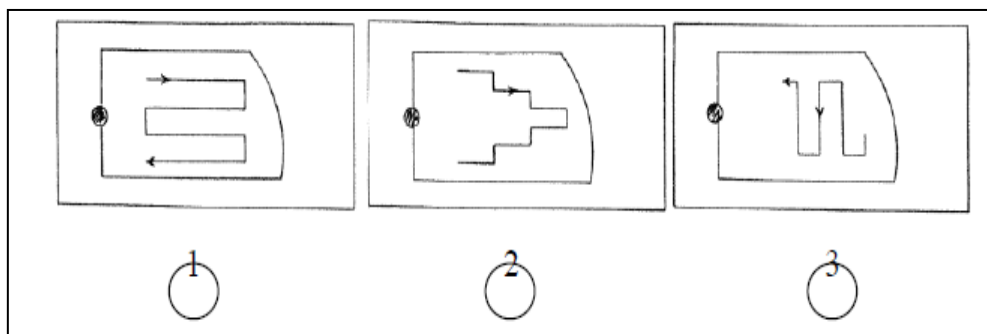
D'après tous les auteurs, l'établissement de la formule nécessite le comptage d'une centaine de leucocytes au minimum. Le nombre conseillé varie d'une publication à l'autre entre 100 et 500 cellules. La précision augmente avec un grand nombre de cellules comptées mais le comptage devient alors fastidieux. 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 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 et al, 2003).

### D.2 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 valable d'un ouvrage l'autre et au sein d'une même publication, certains auteurs décrivent même plusieurs techniques possibles. Ainsi, (Kerr,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 et al, 1983) conseillent 3 méthodes en créneaux différentes que l'on peut décrire dans les figures suivantes :



**Figure 11.** Les trois méthodes de créneaux (Lord-dube 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.

## *Partie II*

# *Etude Expérimentale*

# *Chapitre III*

## *MATERIELS ET METHODES*

### III.1 OBJECTIFS

Nous nous sommes proposé d'étudier les variations de quelques paramètres hématologiques chez des brebis de la race locale au niveau de la région de Tiaret. Cette étude a pour objectifs :

- L'évaluation de certains paramètres hématologiques chez la brebis de la race locale.

Comparaison entre le profil hématologique des brebis vides et celui des brebis gestantes en dernier tiers et cela dans le but d'évaluer le risque que peuvent présenter les femelles gestantes durant cette période.

III.2 Protocole Expérimental

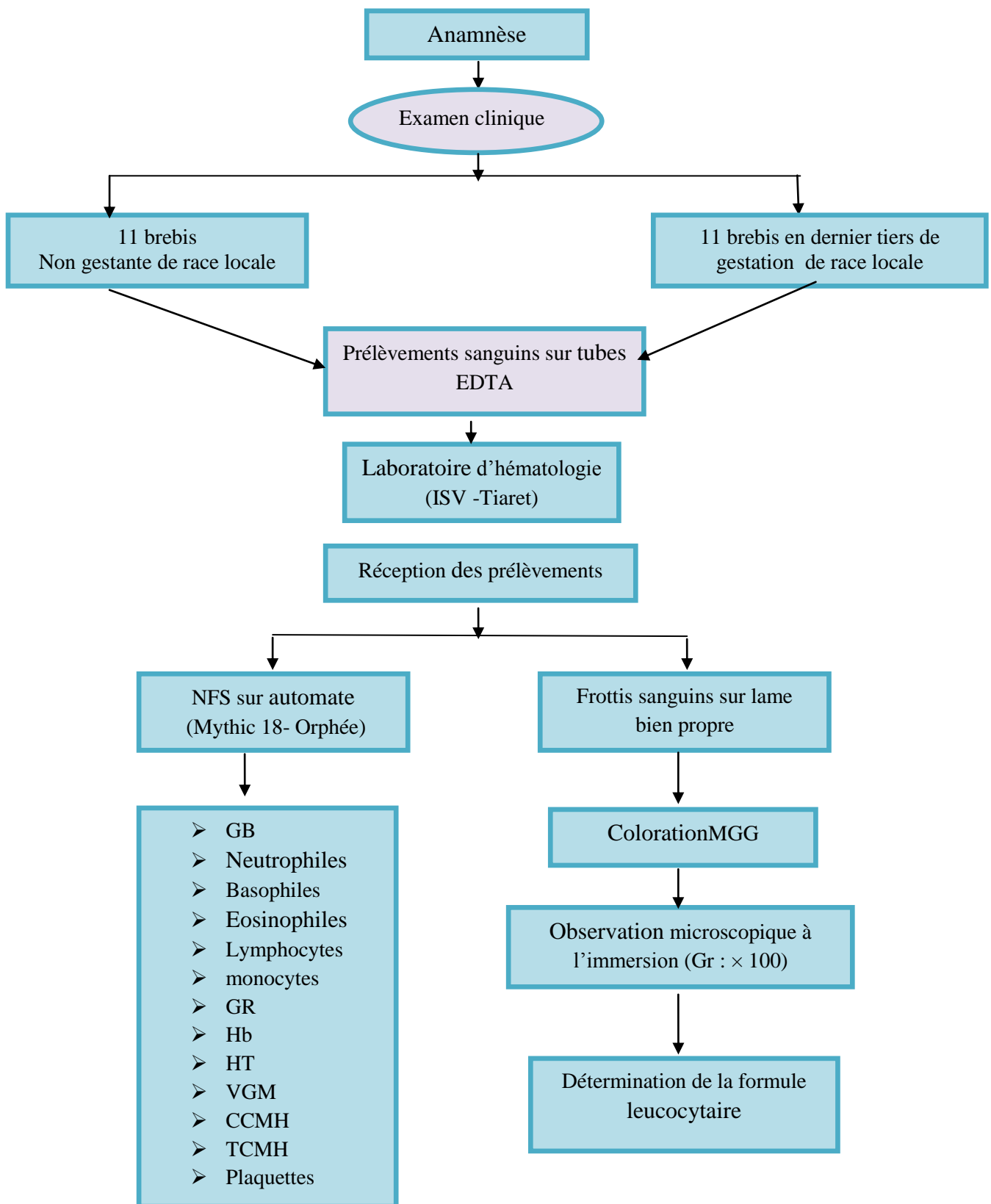


Figure 13. Schéma récapitulatif de protocole expérimental



### III.3 ZONE D'ETUDE : wilaya de Tiaret

La wilaya de Tiaret est située à l'ouest de l'Algérie, elle est délimitée au nord, par les wilayas de Tissemsilt et de Relizane ; au sud, par les wilayas de Laghouat et de El Bayadh ; à l'ouest, par les wilayas de Mascara et de Saïda ; à l'est, par la wilaya de Djelfa.

### III.4 ANIMAUX

L'effectif de cette étude comportait 22 brebis de race locale cliniquement saines, réparties en deux lots, le 1<sup>er</sup> (lot 1) situé au niveau de la bergerie sanitaire de l'Institut des Sciences Vétérinaires de Tiaret, et comprend 11 brebis vides, nourries à la paille et aux concentrés ; le 2<sup>ème</sup> (lot 2) issu d'une ferme privée au niveau de la région de Tiaret(Dahmouni), et comprenant 11 brebis gestantes en dernier tiers, alimentées à l'orge et au son de blé.

Notre étude a été effectuée durant la période allant de novembre 2019 à décembre 2019.



**Figure 12.** Brebis de race locale.

**A:** Lot 1 (Brebis vides); **B:** Lot 2 (Brebis gestantes)

### III.5 PRELEVEMENT SANGUIN

Une prise de sang a été réalisée pour chaque sujet par ponction de la veine jugulaire à l'aide des seringues à usage unique, dans des tubes EDTA, qui ont été transportés vers le laboratoire de Biochimie Animale de l'université IBN KHALDOUN – Institut des Sciences Vétérinaires Département de Santé Animale Laboratoire de Diagnostic Service d'Hématologie – Biochimie).

### III.6 ANALYSES HEMATOLOGIQUES

L'analyse Hématologique a été réalisée à l'aide d'un Compteur cellulaire automatique de type «mythic 18» (Orphée). Les paramètres calculés dans notre étude sont suivants : Globules Blancs (GB), Globules Rouges (GR), Hémoglobine (Hb), Hématocrite (Ht), Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH), Volume Globulaire Moyen (VGM), et les plaquettes (PLA).

#### III.6.1 Frottis sanguins

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

##### III.6.1.1 Préparation d'un frottis sanguin

Les frottis ont été confectionnés sur des lames préalablement dégraissées par alcool.

Les étalements monocellulaires ont été réalisés à partir d'une goutte de sang (trois heures au maximum après le prélèvement sur anticoagulant EDTA. Au-delà de ce délai, on observe une lyse et une déformation des noyaux des leucocytes.

- 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).

Après l'étalement, les frottis sont séchés rapidement à l'air puis colorés selon plusieurs méthodes.

Pour la différenciation générale des types cellulaires, nous avons utilisé la méthode panoptique avec le colorant de May Grünwald-Giemsa(MGG).

### III.6.1.2 Coloration des frottis sanguins

• **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).

• **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.

**étapes de coloration:** On place les Frottis dans un bec, 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 pendant 15 à 20 min puis rinçage avec l'eau distillé ; On laisse les lames sécher à l'aire avant l'observation au microscope.

# *Chapitre IV*

## *RESULTATS ET DISCUSSION*

## IV.1 RESULTATS

Nos résultats ont découlé d'un travail qui a duré un mois, de novembre 2019 à décembre 2019 durant laquelle des prélèvements de sang sur EDTA ont été effectués sur 2 lots de brebis dont un groupe comprenant 11 brebis vides et un deuxième groupe comportant 11 brebis en dernier tiers de gestation. Les résultats obtenus ont fait objet de comparaison entre les 2 groupes.

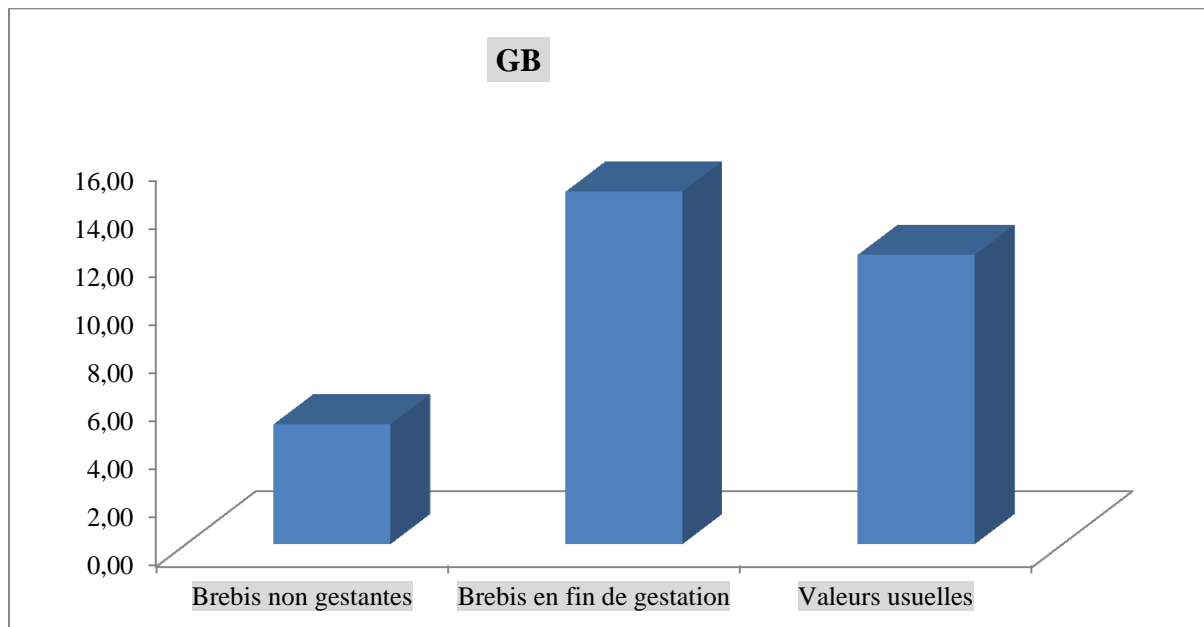
**Tableau 2. Variations des paramètres hématologiques chez des brebis de la race local vides et en fin de gestation**

Paramètres	Brebis non gestantes	Brebis en fin de gestation	Valeurs usuelles (Schalm, 2010)
	(n = 11)	(n = 11)	
	Moyenne ± écart-type	Moyenne ± écart-type	
<b>GB</b>	4.975 ± 1.14	14,62 ± 3,92	12,00
<b>Neu</b>	2 125 ± 785,67	2522,27 ± 2227,01	2400,00
<b>Eos</b>	295,25 ± 558,47	5144,54 ± 2560,62	400,00
<b>Baso</b>	311,58 ± 546,06	6271,45 ± 2628	50,00
<b>Lym</b>	1209,16 ± 552,09	534,18 ± 346,39	5000,00
<b>Mono</b>	1353,66 ± 858,99	155,63 ± 175,44	2000,00
<b>GR</b>	6,85 ± 1,32	8,69 ± 1,67	12,00
<b>Hb (g/dl)</b>	8,05 ± 1,09	9,04 ± 2,03	11,50
<b>Ht (%)</b>	21,63 ± 4,79	27,20 ± 5,53	45,00
<b>VGM (fl)</b>	31,02 ± 2,62	31,21 ± 0,97	34,00
<b>CCMH (g/dl)</b>	38,48 ± 8,16	32,71 ± 2,31	32,50
<b>PLA</b>	2061,8 ± 1026,51	988,09 ± 297,22	500,00

Le tableau 2 révèle la comparaison des moyennes des valeurs de globules blancs et celles de la formule leucocytaire, de l'hémogramme rouge et des plaquettes entre les 2 groupes et par rapport aux valeurs usuelles déterminées par Schalm (2010). Nous avons ainsi noté une diminution des valeurs de l'hémogramme blanc.

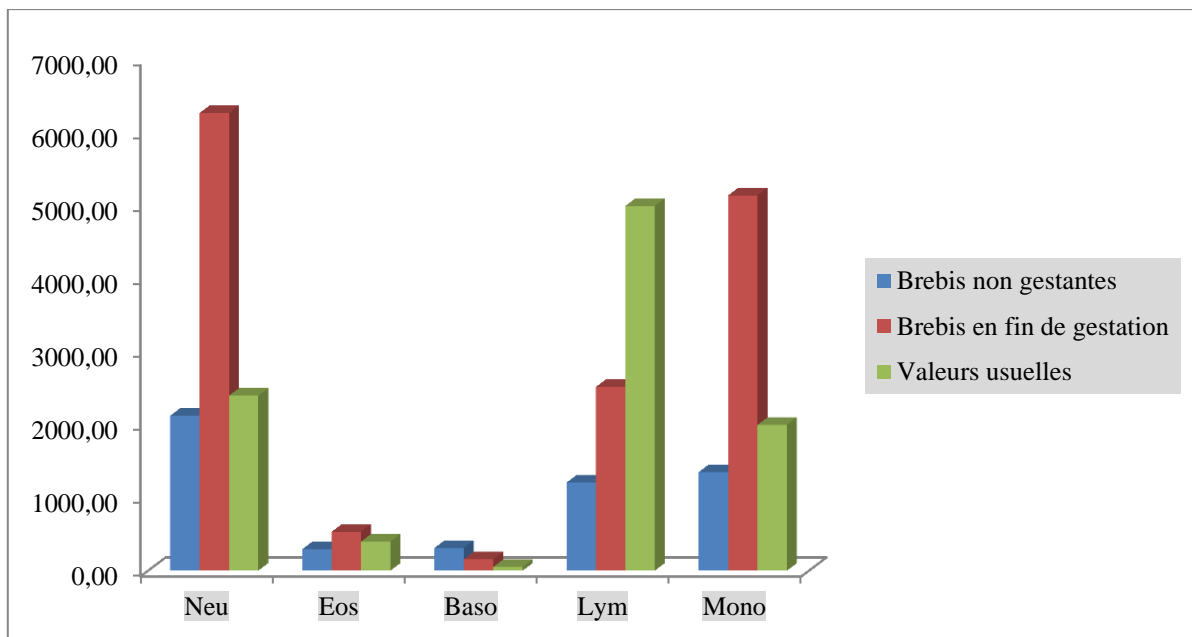
#### IV.1.1 Variations des moyennes GB et les différents types de leucocytes chez des brebis de la race local non gestantes et en fin de gestation.

La numération des globules blancs totaux et la détermination de la formule leucocytaire ont été effectuées pour l'ensemble des brebis primipares (gestantes et non gestantes) et leurs valeurs ont été estimées par rapport aux valeurs usuelles rapportées par Schalm (2010).



**Figure 14. Variations des moyennes des globules blancs chez les brebis de la race local non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.**

Les résultats illustrés dans la figure 14 montrent que la moyenne des GB chez les brebis en fin de gestation ( $14,62 \pm 3,92$ ). $10^3/\text{mm}^3$ , prédomine la moyenne des valeurs usuelles, même celle des brebis non gestantes ( $4,97 \pm 1,14$ ).

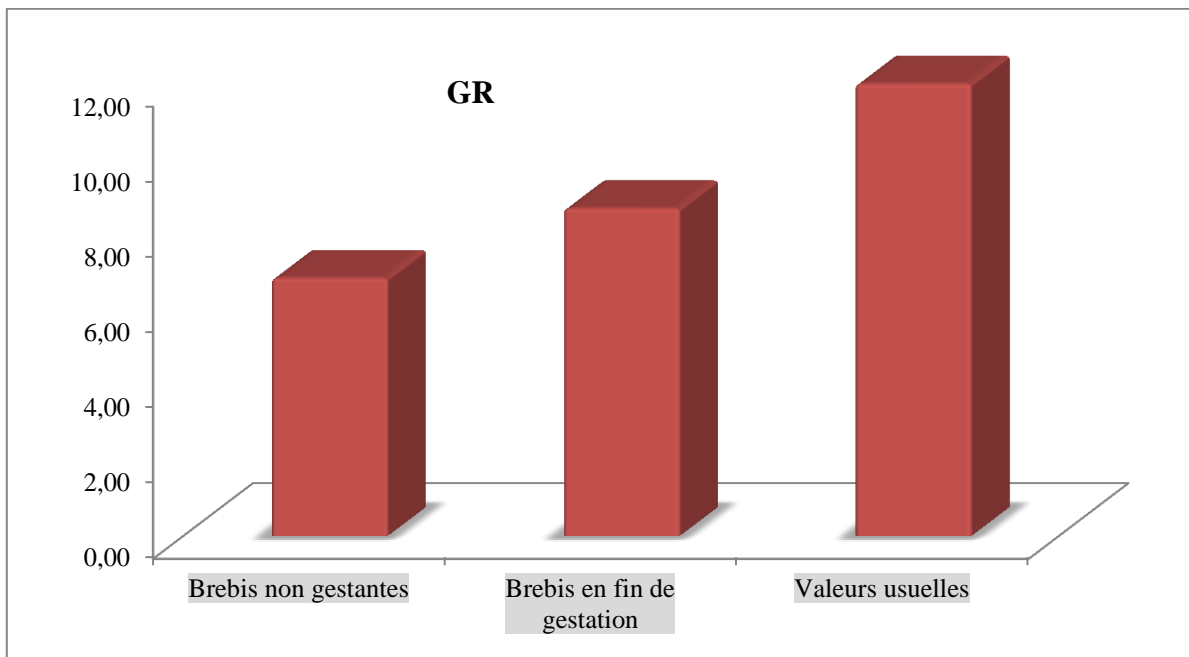


**Figure 15. Variations des moyennes des différents types de leucocytes chez des brebis de la race locale non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.**

Les résultats représentés dans la figure 15 enregistrent une augmentation dans la moyenne des neutrophiles, monocytes et éosinophiles chez les brebis en fin de gestation par rapport aux moyennes des normes de référence et aux moyennes des brebis non gestantes.

Alors que la moyenne des lymphocytes chez les brebis gestantes et brebis non gestantes a été très diminuée par comparaison à celle des valeurs usuelles. En outre les basophiles chez les brebis non gestantes sont un peu augmentés par rapport aux brebis gestantes en dernier tiers, et aux normes de référence.

#### IV.1.2 Variations des moyennes des GR chez des brebis de la race local non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.



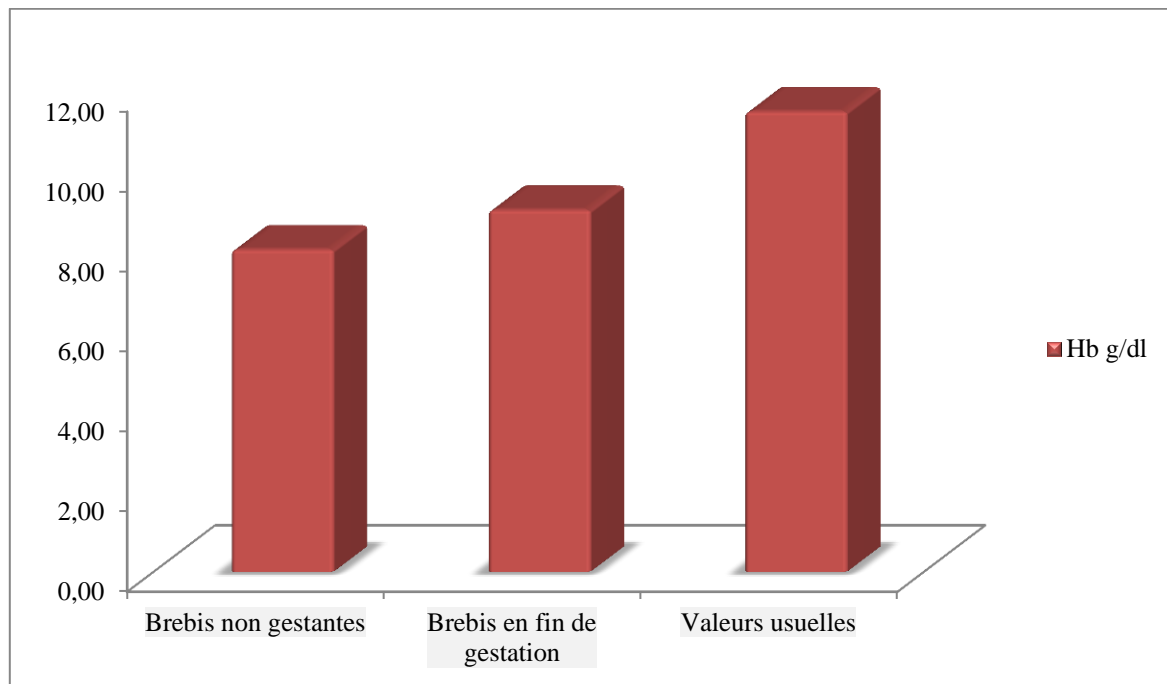
**Figure 16. Variations des moyennes des GR chez des brebis de la race local non gestantes et les brebis gestantes en dernier tiers.**

Les moyennes des GR enregistrées chez les brebis non gestantes et les brebis en fin de gestation (figure16), sont inférieurs par rapport à la moyenne des valeurs usuelles.

Nous remarquons que la moyenne des GR chez les brebis non gestantes est diminuée à celle des brebis en fin de gestation. Cette diminution peut être due au type d'aliment et à la quantité distribuée dans le 1<sup>er</sup> lot.



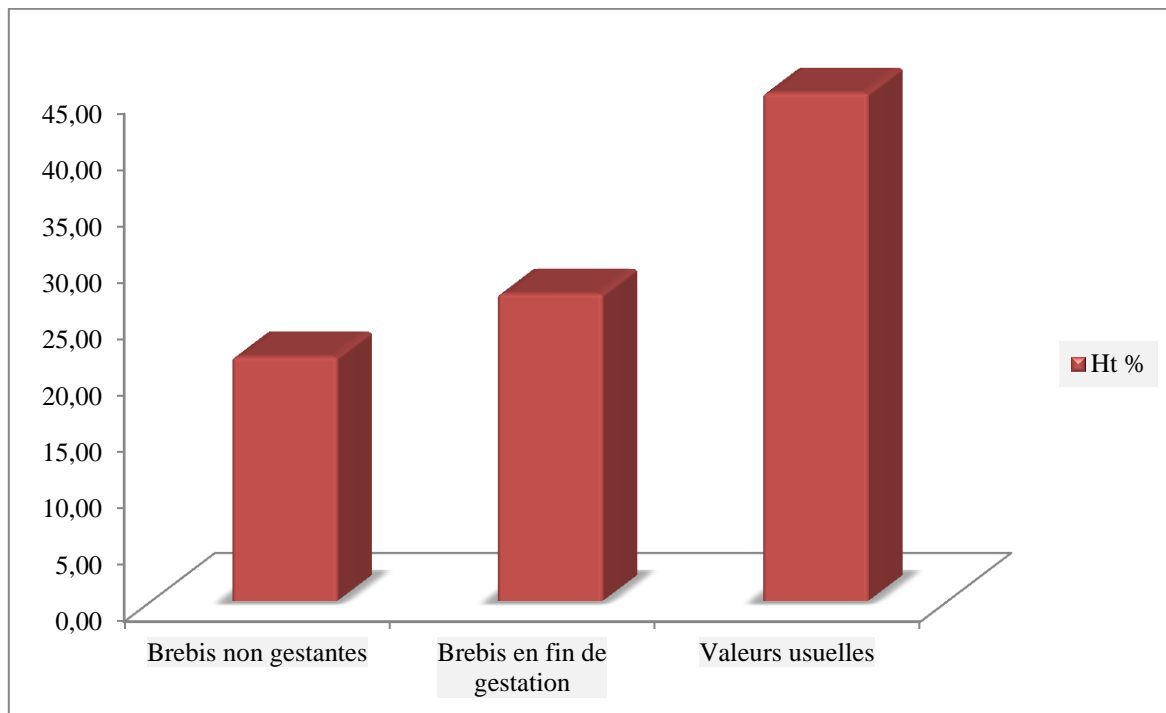
#### IV.1.3 Variations des moyennes de Hb chez des brebis de la race local non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.



**Figure 17. Variations des moyennes d'hémoglobine chez des brebis de la race local non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.**

Nous remarquons dans la Figure 17 que les moyennes d'Hb chez les brebis non gestantes et les brebis en fin de gestation sont inférieurs par rapport aux normes de références. Notons qu'il y'a une différence des moyennes d'Hb entre les brebis des deux lots, où elles sont diminuées chez les brebis non gestantes par rapport aux brebis gestantes en dernier tiers.

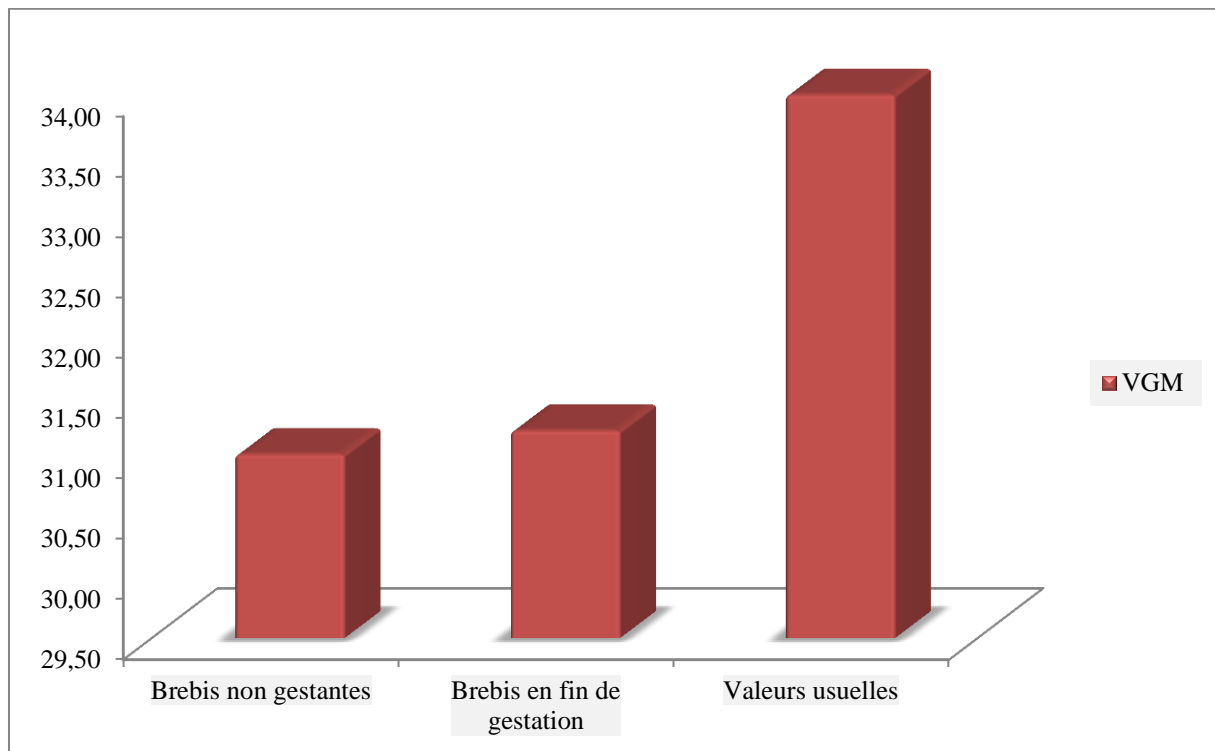
#### IV.1.4 Variations des moyennes des Ht% chez des brebis de la race local non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.



**Figure 18. Variations des moyennes d'Ht chez des brebis de la race local non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.**

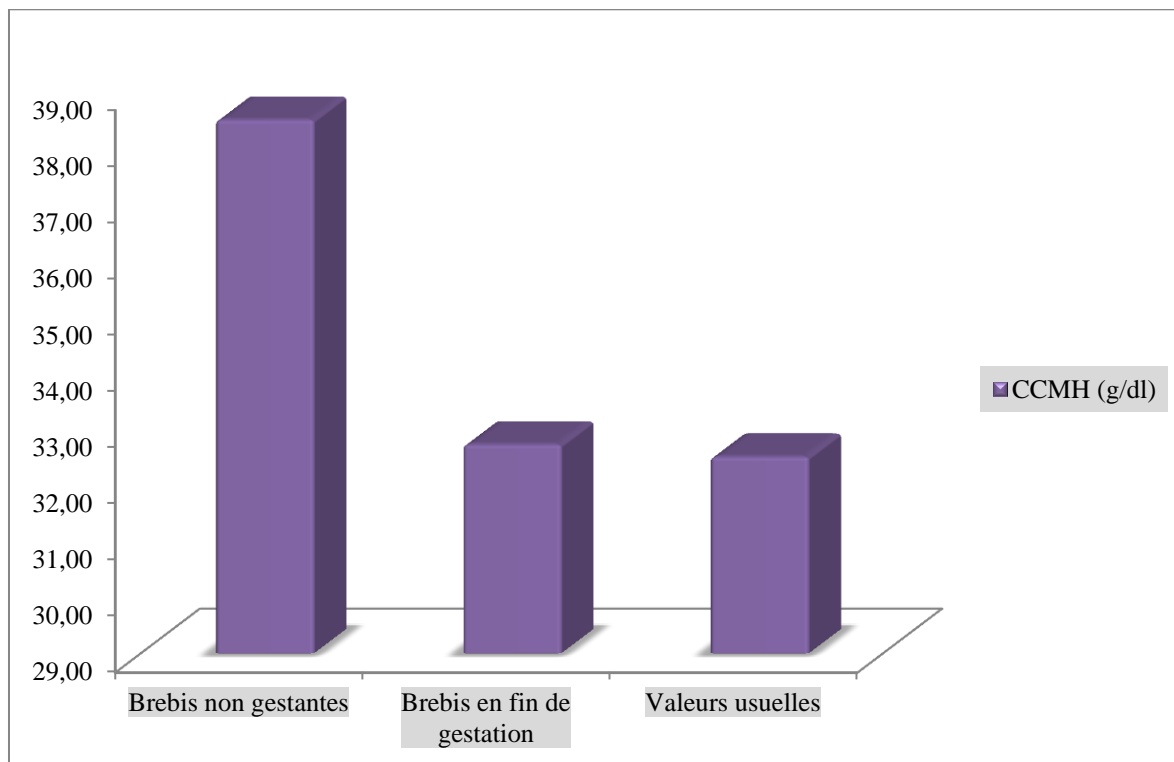
D'après la figure18, nous observons que le pourcentage des valeurs usuelles d'Ht est élevé au pourcentage de l'Ht enregistré chez les brebis non gestantes ( $21,63 \pm 4,79$ ) %, et les brebis gestantes en dernier tiers ( $27,20 \pm 5,53$ ) %.

#### IV.1.5 Variations des moyennes des VGM chez des brebis de la race local non gestantes et gestantes en dernier tiers.



**Figure 19. Variations des moyennes de VGM chez des brebis de la race local non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.**

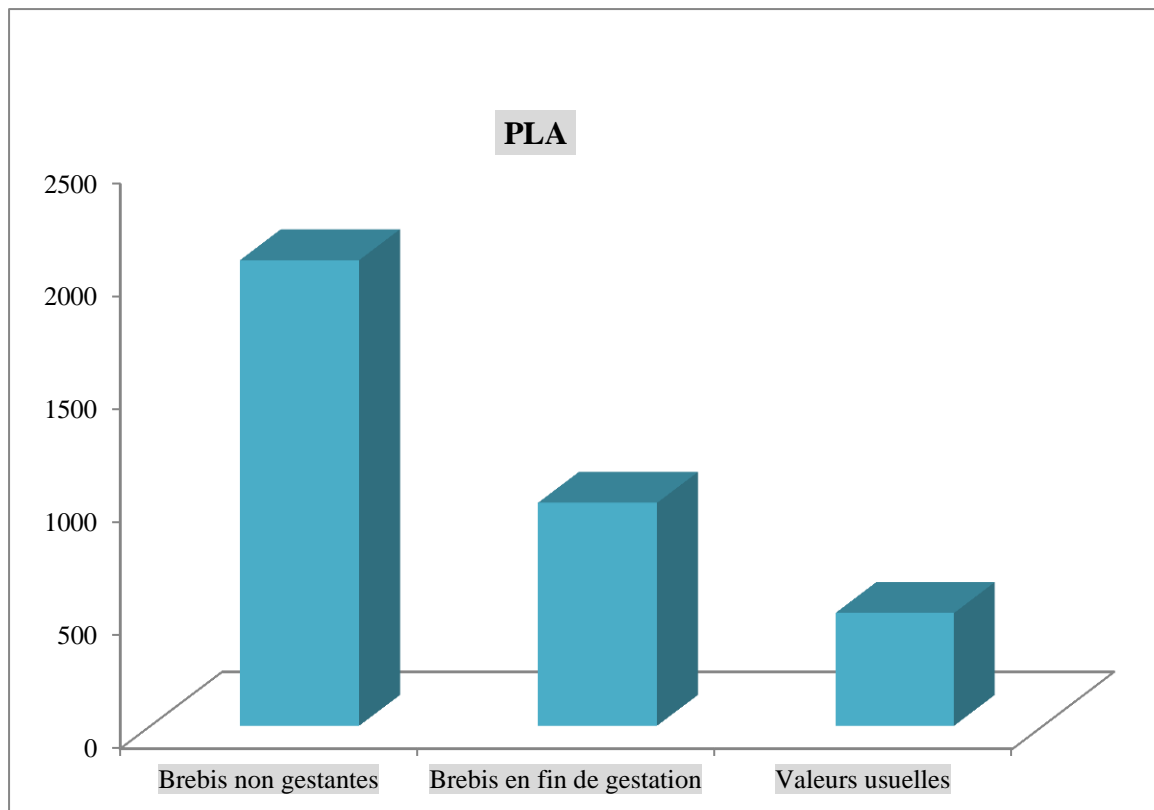
Les moyennes de VGM enregistrées dans notre étude chez les brebis des deux lots sont très diminuées par rapport aux valeurs usuelles, remarquons aussi qu'il n'y a pas de différence importante entre les moyennes de VGM chez les brebis non gestantes ( $31,02 \pm 2,62$ ) fl et les brebis en fin de gestation ( $31,21 \pm 0,97$ ) fl.

**IV.1.6 Variations des moyennes des CCMH chez des brebis de la race local non gestantes et gestantes en dernier tiers.**

**Figure 20. Variations des moyennes de CCMH chez des brebis de la race local non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.**

Les résultats enregistrés dans la figure 20 montrent que la moyenne de CCMH chez les brebis non gestantes est la plus élevée par rapport à celle des brebis gestantes en dernier tiers, et celle des valeurs usuelles.

#### IV.1.7 Variations des moyennes des plaquettes chez des brebis de la race local non gestantes et gestantes en dernier tiers.



**Figure21. Variations des moyennes des plaquettes chez des brebis de la race local non gestantes et des brebis gestantes en dernier tiers.**

La figure 21 indique que la moyenne des plaquettes chez les brebis non gestantes est très élevée par rapport aux moyennes des valeurs usuelles, et celle des brebis en fin de gestation.

Nous remarquons que la moyenne des plaquettes chez les brebis non gestantes prédomine la moyenne des plaquettes des brebis en fin de gestation ( $2061,8 \pm 1026,51$ ). $10^3/\text{mm}^3$  vs ( $988,09 \pm 297,22$ ). $10^3/\text{mm}^3$ .

---

## IV.2 DISCUSSION

Concernant la moyenne des GB chez les brebis gestantes en dernier tiers, nos résultats se rapprochent de celles obtenus par Bezerra *et al.*(2017) au Brésil chez la race Santa Inês, Cihan *et al.* (2016) en Turquie et Adeyeye *et al.* (2016) au Nigéria, qui ont signalé que la moyenne des GB a été plus élevée chez les brebis en fin de gestation que chez les brebis non gestantes. Cette élévation dans la valeur des GB chez les petits ruminants en fin de gestation pourrait être due à l'augmentation des activités de la moelle osseuse (Waziriet *al.*, 2010).

Dans la présente étude, la moyenne des GB chez les brebis non gestantes a été estimée de  $4.975 \pm 1147,42$ , c'est une valeur qui est diminuée par rapport aux résultats obtenus par Titaouine *et al.* (2017) chez les brebis non gestantes de race Ouled Djelal en Algérie, Badawi *et al.* (2014) chez les brebis non gestantes de race Awassi en Iraq, et Cihan *et al.* (2016) en Turquie.

Notre étude a montré une augmentation des neutrophiles chez les brebis en fin de gestation par rapport aux brebis non gestantes, et ces résultats sont comparables à ceux rapportés par Adeyeye *et al.* (2016), qui ont noté que les neutrophiles sont plus élevés chez les brebis gestantes par rapport aux autres valeurs leucocytaires. L'augmentation des neutrophiles dans notre étude pourrait être due à l'augmentation de sécrétion hormonale qui se produit en cas de stress, et de bilan énergétique négatif qui s'installe chez les brebis vers la fin de gestation.

Bezerra *et al.*, (2017) ont montré que la numération des leucocytes totaux, des neutrophiles et des lymphocytes a été significativement influencée par les stades de reproduction.

Nous avons enregistré une moyenne très diminuée des GR chez les brebis des deux lots par rapport aux normes de référence, la moyenne des GR obtenue dans nos résultats chez les brebis non gestantes a été très diminuée par rapport à celle obtenue par Badawi *et al.*, (2014) en Irak chez les brebis de race Awassi, et à celle obtenue par Cihan *et al.* (2016) en Turquie. Cette anémie rencontrée chez les brebis du 1<sup>er</sup> lot pourrait être due à la quantité et au type d'aliment distribué, ainsi qu'à certaines affections parasitaires.

Selon Yaqub *et al.*, (2013), la gestion nutritionnelle des animaux de ferme peut affecter le mécanisme d'hématopoïèse.

Dans nos résultats la moyenne de GR enregistrée chez les brebis en fin de gestation a été estimée de  $(8,69 \pm 1,67)$  cette valeur est diminuée par rapport aux valeurs usuelles des ovins, mais elle concorde avec les résultats obtenus en Egypte par El-Malky, *et al.* (2019) chez les brebis en fin de gestation de la race Barki et la race Ossimi. Bezerra *et al.* (2017) et Alberto *et al.* (2019) ont déterminé une légère diminution des GR chez les brebis en fin de gestation. Selon Iriadam (2007), la diminution du nombre de GR pourrait être due à un facteur connu sous le nom d'hémodilution. L'anémie rencontrée dans notre étude chez les brebis en fin de gestation serait probablement due à l'effet de l'hémodilution.

Ce mécanisme s'installe afin de répondre aux besoins d'oxygène et de nutriments qui augmente vers la fin de gestation, suite à la croissance fœtale (Adili, *et al.*, 2013). Alors que Brito *et al.* (2006) n'ont trouvé aucune variation des paramètres hématologiques entre les brebis gestante et non gestante quand elles sont bien alimentées.

La moyenne de l'Hb obtenue chez les brebis non gestantes se rapproche à celle obtenue par Badawi *et al.* (2014) chez les brebis de race Awassi, par contre elle est diminuée par rapport à la valeur obtenue par Titaouine *et al.* (2017) chez les brebis non gestantes de race Ouled Djelal en Algérie et Cihan *et al.* (2016) en Turquie.

Concernant la valeur de l'Hb enregistrée chez les brebis gestantes dans le 2<sup>ème</sup> lot, elle est comparable à celle déterminée par El-Malky *et al.* (2019) chez les brebis gestantes de race Ossimi et de race Barki, cependant elle diffère de celle rapportée par Bezerra *et al.* (2017) et Cihan *et al.* (2016), qui ont enregistré des valeurs plus ou moins élevées d'Hb chez les brebis gestantes en derniers tiers.

Le pourcentage de l'Ht dans les résultats des brebis non gestantes a été très diminué en le comparant au pourcentage obtenu par Cihan *et al.* (2016) et Titaouine *et al.* (2017) chez les brebis nos gestantes. Le taux de l'Ht enregistré chez les brebis en fin de gestation se rapproche de celui obtenu par El-Malky *et al.* (2019) chez les brebis gestantes de race Ossimi et de race Barki, mais il est diminué par rapport à celui obtenu par Cihan *et al.* (2016) chez les brebis gestantes en dernier tiers.

Le pourcentage de la CCMH obtenu chez les brebis non gestantes a été plus élevé que celui des brebis gestantes et aux valeurs usuelles, ainsi que par rapport à celui rapporté par Badawi *et al.* (2014) chez les brebis non gestantes de race Awassi, l'augmentation de pourcentage de la CCMH chez les brebis non gestantes dans notre étude pourrait être due à la diminution des GR chez les brebis de ce lot.

En outre le résultat de la CCMH obtenu chez les brebis en fin de gestation est en accord avec celui rapporté par Bezerra *et al.* (2017) et El-Malky *et al.* (2019) chez les brebis gestantes en dernier tiers.

La moyenne des plaquettes enregistrée dans notre étude chez les brebis gestantes en dernier tiers a été estimée à  $988,09 \pm 297,22$ ; cette valeur est alors augmentée par rapport à celle obtenue par Alberto *et al.* (2019) qui ont enregistré une moyenne de 873.5 chez les brebis de race Criollas en fin de gestation. Alors nous trouvons que la moyenne des plaquettes enregistrée chez les brebis non gestantes, dans cette étude, a été plus élevée avec une valeur estimée à  $2061,8 \pm 1026,51$



# *CONCLUSION*

## CONCLUSION

L'analyse hématologique fournit des informations fiables sur la santé des animaux, il s'agit d'un moyen important pour évaluer, la production, la reproduction, et la capacité d'adaptation de l'animal dans des conditions environnementales défavorables.

Notre travail s'inscrit dans une optique d'évaluation de certains paramètres hématologiques chez des brebis de la race locale au niveau de la région de Tiaret. Après une analyse hématologique comparative réalisée sur deux groupes différents de brebis (non gestantes et gestantes en dernier tiers), nous avons conclu que :

- Le stade physiologique à une influence sur le profil hématologique des brebis ;
- Les valeurs des GB augmentent avec l'avancement de gestation à cause des troubles hormonaux ;
- La gestion de la ferme contribue à une augmentation dans les valeurs des GB suite aux affections parasitaires, microbiennes, virales ... ;
- Une diminution dans l'hémogramme rouge (GR, Hb, Ht) s'est produite chez les brebis à la fin de gestation en raison de l'augmentation des besoins fœtaux en oxygène et en nutriments;
- La valeur nutritive du type d'aliment et la quantité ingérée par l'animal peuvent réduire les valeurs des GR, Hb, Ht ;

*REFERENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*

## References Bibliographies

- 1. Adeyeye A, A et Ate I U.** Blood Profile of Ewes during Third Trimester of Pregnancy and Lactation .Sokoto and Makurdi in Nigeria : Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr, 2016. - 475-482 : Vol. 64.
- 2. Adib Lamiae.,** Les différentes Techniques d'Analyse au Laboratoire d'Hématologie. Projet de Fin d'Etudes Licence Sciences & Techniques (Sciences Biologiques Appliquées et Santé (LST - SBAS) 2017.
- 3. Adili, N; Melizi, M** The Effect of Age, Sex and Altitude on the Morphometry of Red Blood Cells in Small Ruminants .Algeria : Journal of Animal Science Advances, 2013. - 1 : Vol. 3. - pp. 27-32.
- 4. Ahmad Iyane Sow.** Manuel des procédures techniques des laboratoires d'analyses médicales. RNL 2004 ; p97-12.
- 5. Al- Hadithy Harith Abdul-Hadi et Mohamed Suleiman Jassim.** The hematological parameters in clinically normal lactating and ewes affected with mastitis. Iraq : Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences, 2014. - 2 : Vol. 5. - pp. 46-54.
- 6. Alberto, Plaza Cuadrado; Eduardo, Hernández Padilla; Clara, Rugeles Pinto; Oscar, Vergara Garay; Yonairo, Yonairo.** Hematological profile during the gestation of Creole Hair Sheep (*Ovis aries*) in the department of Córdoba, Colombia [Revue]. - Colombia : Revista Colombiana de Ciencia Animal, February 2019. - 1 : Vol. 11.
- 7. Angulo J., Flandrin G.,** Automated detection of working area of peripheral blood smears using mathematical morphology. Anal cell pathol, 2003. 25: 37-49.
- 8. Antunović, Z; Novoselec, J; Klir, Ž;** Hematological Parameters in Ewes During Lactation in Organic Farming: Poljoprivreda/Agriculture , 2017. - 2 : Vol. 23. - pp. 46-52.
- 9. Archer, RK.** The nature of the blood and its disorders. *In: Comparative Clinical Haematology.* [éd.] Archer, RK and Jeffcott, LB. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- 10. Bacha.W.J.JetBacha.L.M.** Color Atlas of Veterinary Histology, 2000. 2<sup>nd</sup> edition. Part 6: Blood. Lippincott Williams and Wilkins, U.S.A. Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 2004:3-38
- 11. Badawi Naseir Mohammed et AL-Hadithy Harith Abdul-Hadi** The Hematological Parameters in Clinically Healthy Awassi Sheep .Iraq : World's Vet.J, 2014. - 1 :Vol. 4. - pp. 1-5.

12. **Bezerra, Leilson R; Wagner, D.C Oliveira; Tairon, P.D Silva; Jacira, N.C Torreão; Carlo, A.T Marques; Marcos, J Araújo; Ronaldo, L Oliveira** Comparative hematological analysis of Morada Nova and Santa Inês ewes in all reproductive stages .Brazil : Pesq. Vet. Bras, abril 2017. - 4 : Vol. 37. - pp. 408-414. - 10.1590.
13. **Bordjah Samir**, OUAHRANI A Rahim., 2016. Paramètres Hématologiques et Biochimiques durant le Premier Trimestre de la Gestation chez la Vache. Thèse Master Biologie et Physiologie Animale Comparées.
14. **CANFIELD.P.J** Comparative Cell Morphology in the Peripheral Blood Film from Exotic and Native Animals. Aust. Vet. J, 1998, 76; 793 – 800.
15. **Cihan, Huseyin; TEMIZEL, Ethem Mutlu; YILMAZ, Zeki; OZARDA, Yesim;** Serum Iron Status and Its Relation with Haematological Indexes Before and After Parturition in Sheep .Bursa in TURKEY : Kafkas Univ Vet Fak Derg, April 2016. - 5 : Vol. 22. - pp. 679-683.
16. **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).
17. **Domart A., Bourneuf J.**, 1985. Dictionnaire médicale, éditions Larousse.,Paris 2,995 p.
18. **El-Malky, O. M; Mostafa, T. H; Ibrahim, N.H; Younis, F. E; Abd El-Salaam, A. M; Tag El-Din, H. A.** Comparison between productive and reproductive performance of Barki and Ossimi ewes under Egyptian conditions .Egypt : Egyptian Journal of Sheep & Goat Sciences, April 2019. - 1 : Vol. 14. - pp. 61 - 82. Feldman, BF.5th Edition. Blackwell Publishing, 2006: 297-307.
19. **Hannan K., 2017.** Coloration panoptique en hématologie : Etude comparative (Sysmex SP1000 et RAL Stainer). Thèse pour obtenir du diplôme doctorat en pharmacie.
20. **Harald Thöml, Heinz Diem, Torsten Haferlach.**Atlas de poche d'hématologie, 2ème édition, Edition Flammarion, 2006. p09
21. **Harvey, JW.** The erythrocyte: Physiology, metabolism, and biochemical Disorders. In : **Helene, L'Italien, Roselyne, Lord Dubé.** *Hématologie*, deuxième édition, Sainte-Foy (Québec), Le Griffon d'argile, 1998, 434 p. Hematology. [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition.Blackwell Publishing, 2006:1075-1086.

22. **Houwen B.** *Blood film preparation and staining procedures.* In: Pierre RV, editor. Clinics in laboratory medicine. Philadelphia: Saunders, 2002; 22:1–14. ImmunolImmunopathol. 2006;113(1-2):53-63.
23. **Iriadam M** Variation in certain hematological and biochemical parameters during the peri-partum period in Kilis does ..: Small Ruminant Research, 2007. - Vol. 73. - pp. 54-57.
24. **JAIN N.C.**, 1986. Schalm's veterinary hematology, 4th Ed. Philadelphia (USA): Lea and Febiger. 1221 p.
25. Jain, NC. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia : Lea&Febiger, 1993:417 pages.
26. **JAIN.N.C 1993:** Essentials of Veterinary Hematology. Edition Lea and Fibiger, Philadelphia, U.S.A.Jeffcott, LB. Haematological investigation as an aid to diagnosis. In : Comparative Clinical
27. **Jeffcott, LB.**Haematological investigation as an aid to diagnosis. In : Comparative Clinical
28. **Kampen, AH, Olsen, I, Tollersrud, T, Storset AK and Arve Lund, A.**Lymphocyte
29. **Kenny MAXIMIN.** ThèseDocteur (49) 1977:1-12.
30. **KERR M.G.**, 1989. Veterinary Laboratory Medicine. London (GBR): Blackwell Scientific Publications. 270 p.
31. **Kramer, JW.**Normal Hematology of Cattle, Sheep, and Goats. In :Schalm'sVeterinary
32. **KRAMER, JW.**Normal Hematology of Cattle, Sheep, and Goats. In:Schalm's Veterinary Hematology. [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition. BlackwellPublishing, 2006:1075-1086.
33. **LANTIS K.L., et al, 2003.** Elimination of Instrument-Driven Reflex Manuel DifferentialLeucocyte Counts: Optimization of Manual Blood Smear Review Criteria in a High-Volume Automated Hematology Laboratory. Am j Clin. Pathol, 119(5), 656-662.
34. **LARKIN H.** Laboratory practice. 3. Procuring and handling blood. *Ir. Vet. Jour.* 1984 ; 38 : 159-161.
35. **Lassen, ED and Weiser, G.** Laboratory Technology for Veterinary Medicine. In :  
**Lord-Dube H., L'Italien R.**, 1983. Hématologie. Paris (FRA) : Maloine. 335 p.
36. **MADR/DSASI.** Statistiques Agricoles Série B. Ministère de l'Agriculture et du Développement rural / Direction des statistiques agricoles et des systèmes d'information, Alger, Algérie, 2014.

**37. Malheu Julie, Caroline., 2007.** Etude Clinique, Hématologique et Biochimique de Bovins Issus de Clonage Somatique entre 4 Mois et 24 Mois. Thèse de Doctorat Vétérinaire.

**MAMADOU Bobo SOW., 1991.** Contribution à l'Etude de l'Hématologie du Mouton Djallonke dans la Region de Kolda (Sénégal). Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire (Diplôme d'Etat).

**38. Maximin, K., 2010.** Hématologie des bovins : Etude des variations de la naissance à 60 jours. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire.

**39. McCall, Ruth E., et Cathy M. Tankersley.** *Phlebotomy Essentials*. Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 1993, 291 p.

**40. 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.

**41. Oramari, Rabee A S; Bamerny, Araz O; Zebari, Hawar M H;** Factors Affecting Some Hematology and Serum Biochemical Parameters in Three Indigenous Sheep Breeds .Iraq : Advances in Life Science and Technology, 2014. - Vol. 21. - pp. 56-63.

## **Références Bibliographiques**

**42. Roubies, N; Panousis, N; Fytianou, A; Katsoulos, P.D; Giadinis, N; Karatzias, H** Effects of age and reproductive stage on certain serumbiochemical parameters of Chios sheep under Greek rearing conditions .Greece : J. Vet. Med.A Physiol. Pathol.Clin. Med., 2006. - Vol. 53. - pp. 277-281.

**43. 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.

**44. Sawankumar R D; Vasava A A; Pathan M M; Madhira P S; Pate Y G; Pande A M.** Effect of season on physiological, biochemical, hormonal, and oxidative .India : Veterinary World, EISSN, 2017. - 6 : Vol. 10. - pp. 650-654.

**45. SchalmOw, Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC.** *Schalm's Veterinary Hematology*. 5th ed, 2000. Blackwellscientificeditions, 1344p.

**46. Schalm's.Vetrinary Hematology.** sixth edition, Douglas J. Weiss and Jane Wardrop 2010.

- 47. Sirois M. 1995.** Veterinary Clinical Laboratory Procedures. New York (USA): Mosby, 160 p.
- 48. Smith, GS.** Neutrophils. In: Schalm's Veterinary Hematology. [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC.
- 49. 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.
- 50. Stevanović, O; M, Stojiljković; D, Nedić; D, Radoja; V, Nikolić; R, Prodanović; S, Ivanov; I, Vujanac** Variability of Blood Serum Biochemical Parameters in Karakachan Sheep. Serbia : Biotechnology in Animal Husbandry , 2015. - 1 : Vol. 31. - pp. 55-62.
- 51. Stockham, SL and Scott, MA.** Fundamentals of Veterinary clinical Pathology. Blackwell.
- 52. Stockham, SL and Scott, MA.** Fundamentals of Veterinary clinical Pathology. Blackwell Publishing, 2002:32-48.
- 53. Stockham, SL and Scott, MA.** Fundamentals of Veterinary clinical Pathology. Blackwell
- Subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life. Vet.
- 54. THRALL M.A., et al, 2004.** Veterinary Hematology and Clinical Chemistry, Philadelphia (USA): Lippincott Williams, Wilkins, 518.
- 55. Titaouine, M; Bergonier, D; Deghnouche, K; Mohamdi, H** Variations environnementales de paramètres sanguins de brebis Ouled Djellel à 3 altitudes en élevage extensif, Algérie [Revue]. - Biskra in Algeria : Livestock Research for Rural Development, 2017. - 3 : Vol. 29. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Thrall, MA. [éd.] Troy, DB.
- 56. Waziri Mohammed A, Ribadu Abdullahi Y et Sivachelvan Nallatanby** Changes in the serum proteins, hematological and some serum biochemical profiles in the gestation period in the Sahel goats [Revue] // Veterinarski Arhiv. - Nigeria : [s.n.], 2010. - 2 : Vol. 80. - pp. 215-225.
- 57. Willard** ,hematology clinical veterinary 1993 ;534 page
- 58. Wintrobe M.M et al, 1981.** Clinical hematology, 8th Ed. Philadelphia. (USA): Lea and Febiger. 1181p.



- 59. Yaqub L.S., Kawu M.U.; Ayo J.O. 2013.**Influence du cycle de reproduction, du sexe, de l'âge et de la saison sur les paramètres hématologiques chez les animaux domestiques : une nouvelle vue. *J. Cell Anim. Biol.* 7(4):37-43.
- 60. Young, KM.**Eosinophils. *In: Schalm's Veterinary Hematology.* [éd.] Zinkl, JG, Jain, NC, Feldman, BF. 5th Edition. Blackwell Publishing, 2006.

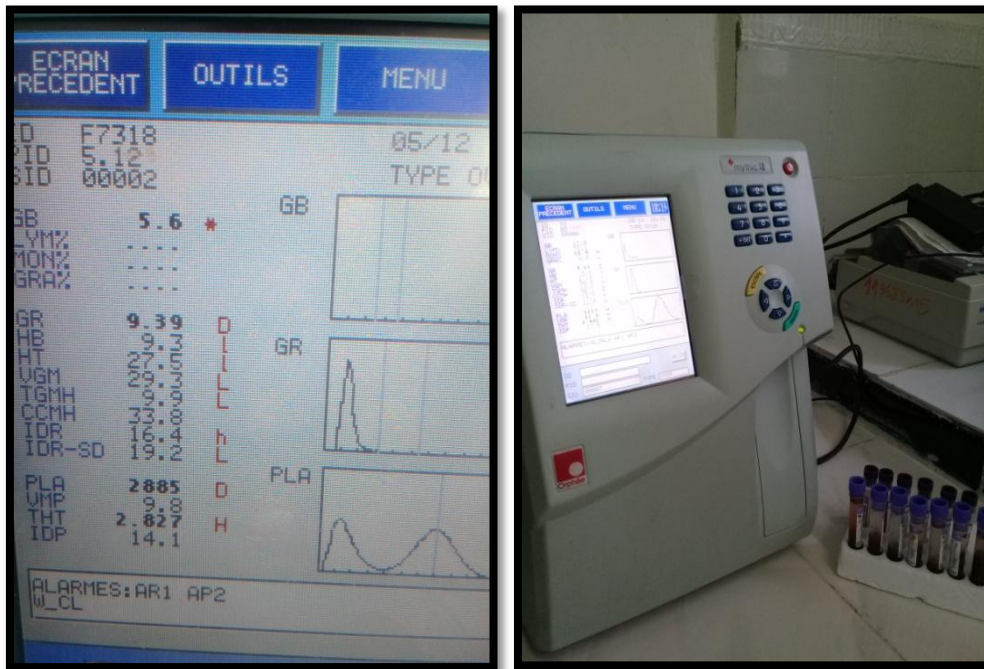
## Résumé

Vingt-deux brebis de la race locale ont été conçues dans cette étude, réparties en 2 lots différents, composés de 11 brebis chacun, les brebis du 1<sup>er</sup> lot étaient vides, alimentées du concentré avec la paille, tandis que les brebis du 2<sup>ème</sup> lot étaient gestantes en dernier tiers, alimentées d'orge avec le son de blé. Des prélèvements sanguins ont été réalisés pour chaque sujet dans le but d'évaluer le changement de certains paramètres hématologiques, ainsi l'influence du stade physiologique sur ces derniers. Les résultats obtenus montrent qu'il y'a une leucocytose chez les brebis en fin de gestation par rapport aux brebis vides, alors que les moyennes des GR, Ht, Hb marquent une diminution par rapport aux normes de références dans les deux groupes de brebis ; cependant cette diminution a été plus importante chez les brebis vides. Des différences dans les moyennes de CCMH et des plaquettes entre les brebis non gestantes et gestantes en dernier tiers ont été également notées et se sont révélées plus élevées chez les brebis non gestantes par rapport aux brebis gestantes. Le stade physiologique est l'un des facteurs importants qui peut influencer le profil hématologique chez la brebis.

## Summary

Twenty-two ewes of the local breed were designed in this study, divided into 2 different batch, composed of 11 ewes each, the ewes of the 1st group were non pregnant, fed with concentrate with straw, while the ewes of the 2nd group were pregnant in the last third, fed barley with wheat bran. Blood samples were taken from each subject in order to assess the change in some hematological parameters, as well as the influence of the Physiological stage on them. The results obtained show that there is leukocytosis in ewes at the end of gestation compared to empty ewes, while the means of RbC, Ht, Hb show a decrease compared to reference standards in the two groups of ewes; however, this decrease was greater in empty ewes. Differences in the MCHC and platelet means between non pregnant and pregnant thirds ewes were also noted and were found to be higher in non-pregnant ewes compared to pregnant ewes. The physiological stage is one of the important factors which can influence the hematological profile in the sheep.

# *ANNEXES*

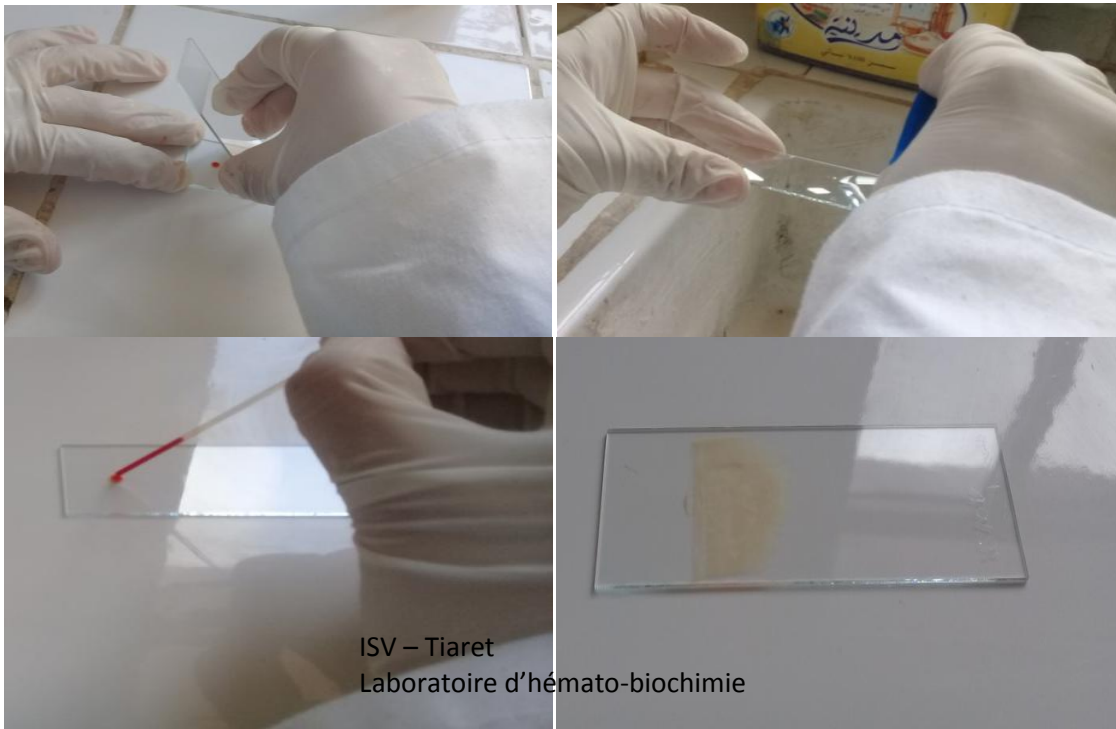


**Annexe 1.** Réalisation de l'analyse hématologique (FNS)



ISV - Tiaret

**Annexe 2.** Prélèvement sanguin



**Annexe 3.** Réalisation d'un frottis sanguin.



**Annexe 4.** Coloration des frottis sanguins.