

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
☆☆☆☆☆☆
ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
(E.I.S.M.V.)

ANNEE 2009



N° 27

ETUDE DU PROFIL HEMATOLOGIQUE CHEZ LES CHIENS
DOMESTIQUES A DAKAR - SENEGAL

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 30 JUILLET 2009 devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar pour obtenir le grade de

DOCTEUR VETERINAIRE (DIPLOME D'ETAT)

Par

Moussa Ndiaye DIOUF

Né le 10 Juillet 1985 à Dakar (SENEGAL)

Jury

- Président :** **M. Bernard Marcel DIOP**
Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar
- Rapporteur de Thèse :** **M. Yalacé Yamba KABORET**
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- Directeur de thèse :** **M. Serge Niangoran BAKOU**
Maître de conférences agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- Membre :** **M. Germain Jérôme SAWADOGO**
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar
-

**ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES
ET MEDECINE VETERNAIRES DE DAKAR**



**BP 5077 – DAKAR (Sénégal)
Tél. (221) 33 865 10 08 – Télécopie (221) 33 825 42 83**

COMITE DE DIRECTION

LE DIRECTEUR

▫ **Professeur Louis Joseph PANGUI**

LES COORDONNATEURS

▫ **Professeur Justin Ayayi AKAKPO**

Coordonnateur Recherche / Développement

▫ **Professeur Germain Jérôme SAWADO**

Coordonnateur des Stages et de la Formation

Post-Universitaires

▫ **Professeur Moussa ASSANE**

Coordonnateur des Etudes

Année Universitaire 2008-2009

PERSONNEL ENSEIGNANT

☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT EISMV**

☞ **PERSONNEL VACATAIRE (PREVU)**

☞ **PERSONNEL EN MISSION (PREVU)**

☞ **PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV (PREVU)**

A. DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PRODUCTIONS ANIMALES

CHEF DE DEPARTEMENT : Ayao MISSOHOU, Professeur

SERVICES

1. ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Serge N. BAKOU	Maître de conférence agrégé
Gualbert Simon NTEME ELLA	Assistant
Mlle Sabine NGA OMBEDE	Monitrice
Mr Bernard Agré KOUAKOU	Moniteur
Mlle Rose Eliane PENDA	Docteur Vétérinaire Vacataire

2. CHIRURGIE –REPRODUCTION

Papa El Hassane DIOP	Professeur
Alain Richi KAMGA WALADJO	Assistant
Bilkiss V.M ASSANI	Docteur Vétérinaire Vacataire
Fabrice Juliot MOUGANG	Docteur Vétérinaire Vacataire

3. ECONOMIE RURALE ET GESTION

Cheikh LY	Professeur
Adrien MANKOR	Assistant
Mr Gabriel TENO	Moniteur

4. PHYSIOLOGIE-PHARMACODYNAMIE-THERAPEUTIQUE

Moussa ASSANE	Professeur
Rock Allister LAPO	Assistant
Mr Sabra DJIGUIBET	Moniteur

5. PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Germain Jérôme SAWADOGO	Professeur
Mouiche MOULIOM	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Pascal NYABINWA	Moniteur

6. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION

Ayao MISSOHOU	Professeur
Simplice AYESSEWEDE	Assistant
Mr Kouamé Marcel N'DRI	Moniteur

B. DEPARTEMENT DE SANTE PUBLIQUE ET ENVIRONNEMENT

CHEF DE DEPARTEMENT : Rianatou BADA ALAMBEDJI, Professeur

S E R V I C E S

1. HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)

Malang SEYDI	Professeur
Bellancille MUSABYEMARIYA	Assistante
Khalifa Babacar SYLLA	Assistant
Mr David RAKANSOU	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Eugène NIYONSIMA	Moniteur

2. MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-PATHOLOGIE INFECTIEUSE

Justin Ayayi AKAKPO	Professeur
Mme Rianatou ALAMBEDJI	Professeur
Philippe KONE	Assistant
Jean Marc FEUSSOM KAMENI	Docteur Vétérinaire Vacataire
Abdel-Aziz ARADA IZZEDINE	Docteur Vétérinaire Vacataire

3. PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE APPLIQUEE

Louis Joseph PANGUI	Professeur
Oubri Bassa GBATI	Maître-assistant
Paul Armand AZEBAZE SOBGO	Docteur Vétérinaire Vacataire

4. PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE - CLINIQUE AMBULANTE

Yalacé Yamba KABORET	Professeur
Yaghouba KANE	Maître-assistant
Mireille KADJA WONOU	Assistante
Medoune BADIANE	Docteur Vétérinaire (SOVETA)
Omar FALL	Docteur Vétérinaire (WAYEMBAM)
Alpha SOW	Docteur Vétérinaire (PASTAGRI)
Abdoulaye SOW	Docteur Vétérinaire (FOIRAIL)
Ibrahima WADE	Docteur Vétérinaire Vacataire
Charles Benoît DIENG	Docteur Vétérinaire Vacataire
Togniko Kenneth TCHASSOU	Moniteur
Enock NIYONDAMYA	Moniteur

5. PHARMACIE-TOXICOLOGIE

Félix Cyprien BIAOU	Maître-Assistant (<i>en disponibilité</i>)
Gilbert Komlan AKODA	Assistant
Assiongbon TEKO AGBO	Assistant
Abdou Moumouni ASSOUMY	Moniteur

C. DEPARTEMENT COMMUNICATION

CHEF DE DEPARTEMENT : YALACE YAMBA KABORET, Professeur

SERVICE

1. BIBLIOTHEQUE

Mariam DIOUF Documentaliste

2. SERVICE AUDIO-VISUEL

Bouré SARR Technicien

3. OBSERVATOIRE DES METIERS DE LELEVAGE (OME)

D. SCOLARITE

El Hadji Mamadou DIENG	Vacataire
Mlle Houénafa Chimelle DAGA	Monitrice
Mlle Aminata DIAGNE	Sécretaire

PERSONNEL VACATAIRE (Prévu)

1. BIOPHYSIQUE

Boucar NDONG
de Pharmacie UCAD

Assistant Faculté de Médecine et

2. BOTANIQUE

Dr Kandouioura NOBA
Dr Mame Samba MBAYE
UCAD

Maître de Conférences (**Cours**)
Assistant (**TP**)
Faculté des Sciences et Techniques

3. AGRO-PEDOLOGIE

Fary DIOME
(IST)

Maître-Assistant
Institut de Science et de la Terre

4. ZOOTECHNIE

Abdoulaye DIENG

Docteur Ingénieur
Enseignant à ENSA - THIES

Léonard Elie AKPO

UCAD

Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques

Alpha SOW

Docteur Vétérinaire Vacataire

5. H I D A O A

. NORMALISATION ET ASSURANCE QUALITE

Mme Mame S. MBODJ NDIAYE

Chef de la division Agro-alimentaire de
L'Institut Sénégalais de Normalisation

. ASSURANCE QUALITE – CONSERVE DES PRODUITS DE LA PECHE

Abdoulaye DIAWARA

Direction de l'Élevage du Sénégal

PERSONNEL EN MISSION (Prévu)

1. TOXICOLOGIE CLINIQUE

Abdoulaziz EL HRAIKI

Professeur
Institut Agronomique et Vétérinaire
Hassan II Rabat (Maroc)

2. PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Mohamed AOUINA

Professeur
Ecole Nationale de Médecine
Vétérinaire de TUNISIE

3. REPRODUCTION

Hamidou BOLY

Professeur
Université de BOBO-DIOULASSO
(Burkina Faso)

4. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION ANIMALE

Jamel RKHIS

Vétérinaire de TUNISIE

Professeur
Ecole Nationale de Médecine

PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV (Prévu)

1. MATHEMATIQUES

Abdoulaye MBAYE

Assistant
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

2. PHYSIQUE

Issakha YOUM

Maître de Conférences (**Cours**)
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

André FICKOU

Maître-Assistant (**TP**)
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

3. CHIMIE ORGANIQUE

Abdoulaye SAMB

Professeur
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

4. CHIMIE PHYSIQUE

Abdoulaye DIOP
Mame Diatou GAYE SEYE

Maître de Conférences
Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

Rock Allister LAPO

Assistant (**TP**)
EISMV – DAKAR

Momar NDIAYE

Assistant (**TD**)
Faculté des Sciences et Techniques

UCAD

5. BIOLOGIE VEGETALE

Dr Aboubacry KANE
Dr Ngansomana BA

Maître-Assistant (**Cours**)
Assistant Vacataire (**TP**)
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

6. BIOLOGIE CELLULAIRE

Serge Niangoran BAKOU

Maître de conférences agrégé
EISMV - DAKAR

7. EMBRYOLOGIE ET ZOOLOGIE

Karomokho DIARRA

Maître de conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

8. PHYSIOLOGIE ANIMALE

Moussa ASSANE

Professeur
EISMV – DAKAR

9. ANATOMIE COMPAREE DES VERTEBRES

Cheikh Tidiane BA

Professeur
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

10. BIOLOGIE ANIMALE (T.P.)

Serge Niangoran BAKOU

Maître de conférences agrégé
EISMV - DAKAR

Oubri Bassa GBATI

Assistant
EISMV - DAKAR

Gualbert Simon NTEME ELLA

Assistant - DAKAR

11. GEOLOGIE

. FORMATIONS SEDIMENTAIRES

Raphaël SARR

Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

. HYDROGEOLOGIE

Abdoulaye FAYE

Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

12. CPEV TP

Travaux Pratiques

Houénafa Chimelle DAGA

Monitrice

DEDICACES

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

Je dédie ce modeste travail ...

- A mes parents : Je vous dois tout. Ce travail est le résultat d'innombrables sacrifices que vous avez consenti pour notre éducation et notre formation. Acceptez-le comme cadeau en remerciement de votre patience et pour la confiance que vous nous avez toujours accordé. Longue vie !
 - Papa : ton sens de l'honneur et de la responsabilité, ta rigueur dans le travail, ont permis de nous inculquer une éducation exemplaire. Tu nous as toujours orienté tout en nous laissant libres dans nos choix. Ce travail est le tien.
 - Maman : ton amour et tes prières pour notre bien être nous ont permis d'aller toujours de l'avant. Ce travail est le fruit de tes sacrifices. A travers toi, je remercie et je dédie ce travail à toutes les mamans.
- A mes frères Mao, Big Boss, Oussou, Bouba, Abibou et à ma sœur Fifi pour notre attachement les uns aux autres, l'amour, le soutien et la complicité qui existent entre nous.
- A tous mes Oncles et Tantes, pour tout l'intérêt et l'affection qu'ils portent à ma personne. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements.
- A mes beau frère el belles sœurs.
- A mes Cousins et Cousines. Je ne saurais tous vous citer de peur d'oublier quelqu'un mais je vous porte au fond de mon cœur.
- A mes Neveux et Nièces, vous êtes tous adorables. Que ce travail soit un exemple pour vous.
- A mes meilleurs amis. Je veux citer Driss. M. MANE et Moustapha SAMB.
- A mes promotionnaire du groupe scolaire les pédagogues : Bass, Idi, Dieng.

- A mes frères et amis de galère au véto : Moutar Seydi, Malick Boye, Moustapha SECK, Rosalie SECK, Robane FAYE, Maodo GNOM.
- A tous mes anciens de l'école vétérinaire.
- A la 36^{ème} promotion de l'EISMV.
- A L'ensemble des étudiants vétérinaires sénégalais.
- A l'amicale des étudiants vétérinaires de Dakar (AEVD).
- A ma très chère patrie le SENEGAL.
- A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

SINCERES REMERCIEMENTS...

Au Professeur Yalacé Yamba KABORET, chef du Service de Pathologie médicale, Anatomie pathologique, Clinique ambulante de l'E.I.S.M.V. de Dakar ;

Au Professeur Serge Niangoran BAKOU, Maître de Conférences Agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar, Professeur accompagnateur de la «Promo 36 BAKOU » ;

Au Dr Cheryl M FRENCH, Ex. Vice Directrice Afrique, Europe, Moyen-Orient des services Internationaux de l'Inspection de la Santé des Animaux et des Plantes (USDA-APHIS) du Ministère de l'Agriculture des Etats-Unis d'Amérique, Marraine de la 36^{ème} Promotion de l'E.I.S.M.V.

Aux docteurs Anna DIOP, Armand SENOU, Ismail SY, Serigne Abdoulaye CISSE, Annabella EVORA NDIAYE pour leur collaboration et leurs conseils ;

Aux docteurs Rose Eliane PENDA et AZEBAZE pour leur collaboration ;

Aux maîtres Chiens Pape M. DIOUF et Toumani pour leur aide précieuse;

Au personnel enseignant de l'E.I.S.M.V. de Dakar.

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre maître et président de jury,

**M. Bernard Marcel DIOP, Professeur à la Faculté de Médecine, de
Pharmacie et d’Odonto-Stomatologie de Dakar.**

Vous nous avez fait l’insigne honneur de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations. La spontanéité et l’humilité avec laquelle vous avez répondu favorablement à notre demande nous a profondément marqué. Soyez rassuré de notre sincère reconnaissance.

A notre maître et Rapporteur de thèse,

M. Yalacé Yamba KABORET, Professeur à l’E.I.S.M.V. de Dakar.

Votre rigueur scientifique et votre attachement à la recherche, ainsi que votre sollicitude et votre modestie nous laissent le souvenir d’un maître pour qui nous ne pouvons avoir que de l’admiration. Nous vous sommes reconnaissants pour votre disponibilité à notre égard et vous prions d’accepter nos sincères remerciements.

**A notre maitre et Directeur de thèse,
M. Serge Niangoran BAKOU, Maître de conférences agrégé à l'E.I.S.M.V.
de Dakar.**

Vous avez dirigé ce travail avec abnégation. Vos conseils ont guidé nos pas. Votre passion et amour pour un travail scientifique de qualité, ont suscité notre admiration durant notre séjour dans votre service. Ce travail est aussi le vôtre.

Profonde gratitude.

**A notre maître et juge,
M. Germain Jérôme SAWADOGO, Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar.**
Nous sommes profondément touchés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail. Votre enseignement lumineux et la sincérité de vos paroles font de vous un maître dont la simplicité et les qualités humaines contrastent avec une grande culture scientifique. Soyez rassurés de notre grand respect.

« Par délibération, la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie et l'école Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar ont décidé que les opinions dans les dissertations qui leurs seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune appropriation ni improbation ».

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

BCR : B Cell Receptor

CFU : Colony Forming Unit

CMH : Complexe Majeure d'Histocompatibilité

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

CSF : Colony Stimulating Factor

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétracétique

EPO : Erythropoïétine

PAF : Facteur d'Activation Plaquettaire

GN : Granulocyte Neutrophile

GE : Granulocyte Eosinophile

GB : Granulocyte Basophile

Hb : Hémoglobine

Ht : Hématocrite

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

Inf : Interféron

MGG : May-Grünwald-Giemsa

MPO : Myéloperoxydase

NG : Numération Globulaire

Pg : Prostaglandine

SPM : Système de Phagocyte Mononucléé

TCR : T Cell Receptor

TPO : Thrombopoïétine

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Schéma de l'érythropoïèse [46]	10
Figure 2 : Schéma de la différenciation des cellules myéloïdes	16
Figure 3: Schéma de la différenciation des cellules lymphoïdes	17
Figure 4: Les principales cytokines impliquées dans l'hématopoïèse et leurs actions [4]	21
Figure 5: Morphologie des cellules sanguines [48]	26
Figure 6: Courbe de résultat d'un test pour des animaux sains et construction de l'intervalle de référence [22]	35
Figure 7: Réalisation et Contrôle de qualité d'un frottis sanguin [24]	41
Figure 8: Représentation schématique d'un frottis sanguin sur une lame de verre [11]	44
Figure 9: Les trois méthodes de créneaux [27]	47
Figure 10: Carte de la région de Dakar (= sites de prélèvement) [44].....	63
Figure 11: Compteur cellulaire automatique de type MS9-3.Vet [47]	66
Figure 12: Réalisation d'un frottis sanguin.....	68
Figure 13 : Répartition des chiens de l'étude selon le statut résidentiel.....	76
Figure 14 : Répartition des chiens de l'étude en fonction de la race	77
Figure 15 : Répartition des chiens de l'étude en fonction du sexe	77
Figure 16: Répartition des chiens de l'étude en fonction de l'âge.....	78
Figure 17: Répartition des chiens de l'étude en fonction de l'alimentation	78
Figure 18: Courbe de résultat de la numération érythrocytaire	79
Figure 19: Courbe de résultat du taux d'hémoglobine.....	80
Figure 20: Courbe de résultat de l'hématocrite.....	80
Figure 21: Courbe de résultat de la numération leucocytaire totale	81
Figure 22: Courbe de résultat de la numération lymphocytaire.....	81
Figure 23: Courbe de résultat de la numération monocytaire.....	82
Figure 24: Courbe de résultat de la numération des neutrophiles.....	82
Figure 25: Courbe de résultat de la numération des éosinophiles	83
Figure 26: Courbe de résultat de la numération des basophiles.....	83
Figure 27: Courbe de résultat de la numération plaquettaire	84
Figure 28: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction de la race.....	86
Figure 29: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction du sexe	87
Figure 30: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction de l'âge	87

Figure 31: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction de l'alimentation.....	88
Figure 32: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction de la race.....	89
Figure 33: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction du sexe.....	89
Figure 34: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction de l'âge.....	90
Figure 35: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction de l'alimentation.....	90
Figure 36: Evolution de la numération plaquettaire en fonction de la race.....	91
Figure 37: Evolution de la numération plaquettaire en fonction du sexe.....	91
Figure 38: Evolution de la numération plaquettaire en fonction de l'âge.....	92
Figure 39: Evolution de la numération plaquettaire en fonction de l'alimentation.....	92
Figure 40 : Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction du statut résidentiel.....	94
Figure 41: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction du statut résidentiel.....	95
Figure 42: Evolution des paramètres plaquettares en fonction du statut résidentiel.....	95
Figure 43: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction du statut résidentiel (2).....	96
Figure 44: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction du statut résidentiel (2).....	97
Figure 45: Evolution des paramètres plaquettares en fonction du statut résidentiel (2).....	97

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Valeurs usuelles des érythrocytes de chien	37
Tableau II : Valeurs usuelles du leucogramme de chien adulte	38
Tableau III : Fourchettes de valeurs moyennes des différents paramètres hématologiques.	85
Tableau IV : Comparaison de nos résultats aux valeurs données dans la littérature	85
Tableau V : Probabilités critiques des paramètres sanguins en fonction des facteurs de variation	93
Tableau VI : Probabilités critiques des paramètres sanguins en fonction des facteurs de variation (2)	98

TABLE DES MATIERES

<i>PERSONNEL ENSEIGNANT</i>	I
<i>DEDICACES</i>	X
<i>SINCERES REMERCIEMENTS...</i>	XII
<i>A NOS MAITRES ET JUGES</i>	XIII
<i>LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS</i>	XVI
<i>LISTE DES FIGURES</i>	XVII
<i>LISTE DES TABLEAUX</i>	XIX
TABLE DES MATIERES	XX
INTRODUCTION GENERALE	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	1
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE SANG	5
1.1 ORIGINE ET FORMATION DES CELLULES SANGUINES	5
1.1.1 Localisation de l'hématopoïèse.....	6
1.1.2 Schéma général de l'hématopoïèse	7
1.1.2.1 Compartiment des cellules souches indifférenciées : C.F.U.....	7
1.1.2.2 Compartiment des cellules en voie de maturation	8
1.1.3 Erythropoïèse.....	9
1.1.3.1 Phase de multiplication	9
1.1.3.2 Phase de maturation	9
1.1.4 Granulopoïèse et la monocytopoïèse	10
1.1.4.1 Cellules souches	10
1.1.4.2 Lignée granulocytaire neutrophile	11
1.1.4.3 Lignée granulocytaire éosinophile	13

1.1.4.4 Lignée granulocytaire basophile	13
1.1.4.5 Lignée monocytaire.....	14
1.1.4.6 Lignée Mégacaryocytaire.....	14
1.1.5 Lymphocytopièse	16
1.1.6 Régulation de l'hématopoïèse	17
1.1.6.1 Classification des cytokines hématopoïétiques.....	18
1.1.6.2 Mode d'action des cytokines hématopoïétiques	18
1.2 MORPHOLOGIE DES CELLULES SANGUINES.....	22
1.2.1 Hématies	22
1.2.2 Granulocytes neutrophiles.....	22
1.2.3 Granulocytes éosinophiles.....	23
1.2.4 Granulocytes basophiles.....	23
1.2.5 Monocytes	24
1.2.6 Lymphocytes	24
1.2.7 Plaquettes (thrombocytes).....	25
1.3 DEVENIR ET FONCTIONS DES CELLULES SANGUINES.....	27
1.3.1 Hématies	27
1.3.1.1 Devenir	27
1.3.1.2 Rôle	27
1.3.2 Granulocytes neutrophiles.....	27
1.3.2.1 Devenir :	27
1.3.2.2 Rôle	28
1.3.3 Granulocytes éosinophiles.....	28
1.3.3.1 Devenir	28
1.3.3.2 Rôle	28
1.3.4 Granulocytes basophiles.....	29
1.3.4.1 Devenir	29
1.3.4.2 Rôle	29
1.3.5 Monocytes	29

1.3.5.1 Devenir	29
1.3.5.2 Rôle	30
1.3.6 Lymphocytes	30
1.3.6.1 Devenir	30
1.3.6.2 Rôle :	31
1.3.7 Plaquettes.....	31
CHAPITRE II : ANALYSES SANGUINES	33
2.1 RAPPELS SUR LES PARAMETRES SANGUINS	33
2.1.1 Etablissement des intervalles de référence.....	33
2.1.2 Valeurs usuelles.....	36
2.1.2.1 Valeurs usuelles des hématies	36
2.1.2.2 Valeurs usuelles des leucocytes circulants.....	37
3.1 FROTTIS SANGUIN.....	39
3.1.1 Intérêt.....	39
3.1.2 Réalisation d'un frottis sanguin	39
3.1.2.1 Collecte de sang	39
3.1.2.2 Etalement.....	40
3.1.2.3 Coloration.....	42
3.1.3 Méthodes de lecture du frottis sanguin	43
3.1.3.1 Zone de comptage	43
3.1.3.2 Observation au microscope optique	44
3.1.3.3 Nombre de cellules nécessaires pour le comptage.....	45
3.1.3.4 Méthodes de déplacement au dessus de la lame	46
3.2 L'AUTOMATISATION EN HEMATOLOGIE	47
3.2.1 Principe de fonctionnement des automates	48
3.2.2 Intérêts et limites	49

CHAPITRE III : VARIATIONS DES PARAMETRES

HEMATOLOGIQUES	51
3.1 VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES	51
3.1.1 Hématies	51
3.1.2 Leucocytes.....	51
3.1.2.1 Influence de l'âge	51
3.1.2.2 Influence du sexe.....	52
3.1.2.3 Influence de la race	52
3.1.2.4 Leucocytose physiologique.....	52
3.1.2.5 Formule de stress.....	53
3.1.2.6 Influences diverses constatées.....	54
3.2 VARIATIONS PATHOLOGIQUES	55
3.2.1Hématies	55
3.2.1.1Polyglobulie.....	55
3.2.1.2 Anémies.....	55
3.2.2 Granulocytes neutrophiles.....	56
3.2.2.1 Neutropénie	56
3.2.2.2 Neutrophilie.....	57
3.2.3 Granulocytes éosinophiles.....	57
3.2.3.1 Eosinopénie :	57
3.2.3.2 Hyperéosinophilie :	57
3.2.4Granulocytes basophiles.....	58
3.2.4.1 Basophilie :.....	58
3.2.4.2 Mastocytémie :	58
3.2.5 Monocytes	58
3.2.5.1 Monocytopénie :.....	58
3.2.5.2 Monocytoses :.....	59
3.2.6 Lymphocytes	59
3.2.6.1 Lymphopénie :.....	59

3.2.6.2 Lymphocytose :	59
3.2.7 Plaquettes.....	60
3.2.7.1 Thrombopénie :	60
3.2.7.2 Thrombopathies :.....	60

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE 1

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES 62

1.1 CADRE DE L'ETUDE.....	62
1.1.1 Région de Dakar.....	62
1.1.2 Laboratoire d'analyse.....	63
1.2 MATERIEL.....	64
1.2.1 Animaux	64
1.2.2 Matériel de prélèvement sanguin	64
1.2.3 Matériel de laboratoire	64
1.2.3.1 Matériel de réalisation des étalements sanguins	64
1.2.3.2 Matériel et produits de coloration des étalements sanguins.....	65
1.2.3.3 Matériel de lecture.....	65
1.2.3.4 Matériel de numération automatique	65
1.3 METHODES	66
1.3.1 Echantillonnage	66
1.3.2 Prélèvement sanguin	67
1.3.3 Frottis sanguin	68
1.3.3.1 Etalement.....	68
1.3.3.2 Coloration.....	69
1.3.3.3 Lecture.....	70
1.3.4 Numération leucocytaire manuelle	71
1.3.5 Numération automatique	72
1.3.6 Transcription et classification des données.....	73

1.3.7 Méthodes statistiques	74
1.3.7.1 Profil hématologique	74
1.3.7.2 Facteurs de variations	75
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	75
2.1 RESULTATS	75
2.1.1 CARACTERISTIQUES DES ANIMAUX	75
2.1.1.1 Lieu de résidence	75
2.1.1.2 Race	77
2.1.1.3 Sexe	77
2.1.1.4 Age	78
2.1.1.5 Alimentation	78
2.1.2 Paramètres hématologiques	79
2.1.2.1 Distribution	79
2.1.2.2 Analyse statistique	84
2.1.3 Facteurs de variation	86
2.1.3.1 Paramètres érythrocytaires	86
2.1.3.2 Paramètres leucocytaires	88
2.1.3.3 Paramètres plaquettaires	91
2.1.3.4 Analyse de régression	93
2.1.4 Effet du statut résidentiel	94
2.2 DISCUSSION	99
2.2.1 Sur le cadre d'étude	99
2.2.2 Sur la méthode d'étude	100
2.2.3 Sur les résultats	101
2.2.3.1 Valeurs de référence	101
2.2.3.2 Facteurs de variations	102
2.2.3.3 Effet du lieu de résidence	104
2.3 RECOMMANDATIONS	104

CONCLUSION GENERALE	105
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</i>	108
ANNEXES	

INTRODUCTION GENERALE

La population canine est très importante dans la région de Dakar. Estimée environ à 150 000 individus [45], cet effectif évolue aujourd'hui de manière grandissante. Cette tendance est, d'une part, due aux adoptions de chiens qui sont de plus en plus fréquentes au sein des familles dakaroises. D'autre part, on note la forte imprégnation occidentale de la région de Dakar. En effet, sa position géographique, son climat, ses sites touristiques mais aussi sa stabilité politique font de Dakar une ville d'attraction. La population occidentale, souvent détenteur d'animaux de compagnie en particulier le chien, y est ainsi grandement présente. A la race locale (Laobé) fortement représentée, vient donc s'ajouter une population de chiens de races exotiques diverses.

Outre cet effectif considérable, le chien revêt aujourd'hui de plus en plus d'importance aux yeux de la société. En effet, à travers ses aptitudes de compagnonnage et sa fidélité, cet animal est parvenu à s'intégrer dans la vie de l'homme, voire même devenir un membre à part entière de la famille. Certains d'entre eux iront jusqu'à être des animaux de prestige en raison de leurs caractéristiques particulières.

De plus, le chien joue d'autres rôles. On distingue entre autres les chiens de garde, les chiens pisteurs, les chiens de course, etc.

Cependant, comme tout être vivant, le chien est sujet à différentes pathologies. Et vu l'importance qu'il revêt, il semble évident que son état de santé soit une grande préoccupation. L'augmentation vertigineuse du nombre de consultations en cliniques canines en témoigne.

Par ailleurs, le diagnostic clinique seul s'avère souvent insuffisant et le recours aux examens de laboratoire est une pratique de plus en plus courante en médecine canine. En effet, la biologie clinique constitue une aide essentielle au diagnostic, au suivi du traitement et au pronostic des affections chez le chien.

Parmi ces analyses, l'hématologie occupe une place très importante. C'est un examen courant et essentiel en clinique des animaux de compagnie. Il s'agit ainsi d'utiliser des indicateurs facilement accessibles en vue de détecter des perturbations siégeant dans des sites organiques peu accessibles.

Ces analyses étaient initialement réalisées dans des laboratoires d'hématologie humaine. Ce qui confrontait les praticiens à des difficultés d'interprétation en raison des différences qui existent entre les populations sanguines humaine et animale. De nos jours, cette pratique tend à disparaître vu le développement de l'hématologie vétérinaire avec l'avènement des automates d'hématologie calibrés pour différentes espèces animales.

Cependant, cet outil n'est efficace que si les résultats des paramètres choisis pour explorer une fonction donnée peuvent être comparés à des valeurs usuelles et interprétés. Ces valeurs peuvent fluctuer en fonction de plusieurs facteurs, et ce de manière très significative. La connaissance de ces écarts permet donc de mieux distinguer les variations physiologiques de celles liées à des affections. Il est donc nécessaire pour chaque laboratoire d'hématologie d'avoir sa propre base de données de valeurs usuelles en plus des données issues de la littérature.

Mais de nos jours, à notre connaissance, aucune étude n'a encore été réalisée dans le domaine de l'hématologie canine au Sénégal en particulier à Dakar. Et jusque là, les valeurs de référence utilisées au laboratoire d'hématologie vétérinaire de l'E.I.S.M.V. de Dakar sont issues de travaux réalisés dans d'autres pays, de surcroît sur des chiens de races différentes. Il nous est donc paru important, dans le cadre de nos travaux de thèse de doctorat en médecine vétérinaire, de nous intéresser à l'étude de l'hématologie chez les carnivores domestiques dans la région de Dakar (Sénégal).

L'objectif général de ce travail est d'élaborer un profil hématologique des chiens domestiques dans la région de Dakar.

De façon spécifique, il s'agira :

- De déterminer les valeurs des paramètres érythrocytaires, leucocytaires et plaquettaires ;
- De voir l'influence des facteurs de variations sur ces paramètres sanguins ;
- De comparer la population canine de Dakar à un lot de chiens résident de façon temporaire à Dakar.

Notre travail a été réalisé en deux grandes parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique des données sur l'hématologie en général et en particulier sur l'hématologie des carnivores domestiques. Elle s'articule en trois chapitres relatant successivement les généralités sur le sang, les analyses sanguines et les variations des paramètres hématologiques.
- La deuxième partie, consacrée à l'étude expérimentale, est scindée en deux chapitres. Le premier chapitre décrit le site de l'étude ainsi que le matériel et les méthodes utilisés au terrain et au laboratoire. Dans le deuxième chapitre, les résultats sont tout d'abord présentés puis discutés avant d'aboutir à des recommandations.



PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE SANG

Le sang est un tissu conjonctif spécialisé constitué d'une substance intercellulaire fluide (le plasma) dans lequel baignent des éléments figurés. Les éléments figurés sont constitués par :

- Les globules rouges (érythrocytes ou hématies) qui transportent l'oxygène des poumons aux tissus ;
- Les globules blancs (leucocytes) qui jouent un rôle de défense en détruisant les organismes infectieux (bactéries, virus). Ils permettent aussi l'élimination des tissus morts ou lésés ;
- 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.

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

1.1 Origine et formation des cellules sanguines

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

1.1.1 Localisation de l'hématopoïèse

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

- ✓ La moelle osseuse rouge, hématopoïétique, richement vascularisée qui assure la production des cellules sanguines. Chez le fœtus et le nouveau né, elle s'étend à la presque totalité des cavités osseuses. Elle régresse progressivement chez l'adulte au profit de la moelle osseuse adipeuse pour se localiser dans les os plats (côtes, vertèbres, sternum, bassin) et l'épiphyse des os longs. L'activité médullaire hématopoïétique persiste cependant durant toute la vie de l'individu.
- ✓ La moelle osseuse jaune, adipeuse constituée exclusivement d'adipocytes et non hématopoïétique. Elle remplace progressivement la moelle rouge au cours du développement de l'individu. Elle occupe chez l'adulte 50 à 75% des cavités médullaires osseuses.

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

1.1.2 Schéma général de l'hématopoïèse

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

1.1.2.1 Compartiment des cellules souches indifférenciées : C.F.U.

Ces cellules sont non identifiables morphologiquement. Leur morphologie est comparable à celle d'un lymphocyte. Elles sont actuellement regroupées sous le nom générique de C.F.U. (Colony-Forming-Unit) c'est-à-dire unité (ou cellule) formant des colonies de multiplication. Elles sont distinguées en deux groupes :

- ✓ Les cellules souches indifférenciées pluripotentes (totipotentes) : C.F.U.-S (Colony-Forming-Unit in Spleen). Ces cellules sont indéterminées, capables de donner naissance à l'ensemble des lignées cellulaires sanguines. A l'état normal, 80 à 90% des C.F.U.-S sont en phase réversible de repos intermitotique. Elles représentent un stock de cellules souches utilisables à tout moment, selon les besoins de l'organisme. Les C.F.U.-S sont également capables d'autorenouvellement par division homoplasique (production de deux cellules filles identiques à la cellule d'origine) qui assure le maintien d'une population de cellules souches pluripotentes.
- ✓ Les cellules souches indifférenciées déterminées : non identifiables morphologiquement mais déjà orientées de manière irréversible dans le sens d'une ou de plusieurs lignées sanguines déterminées. Les cellules déterminées sont en grande majorité engagées dans le cycle cellulaire et effectuent plusieurs divisions successives. Elles correspondent à la première étape de la différenciation des cellules sanguines mais également à une étape de multiplication de cellules précurseurs.

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

- ✓ C.F.U.-L (C.F.U. Lymphocytic) : Cellule souche lymphoïde qui donnera naissance aux deux lignées lymphocytaires : les lymphocytes B et les lymphocytes T ;
- ✓ C.F.U.-GEMM : cellule souche myéloïde à l'origine de l'ensemble des autres lignées sanguines (érythrocytes, granulocytes, monocytes, mégacaryocytes). Cette cellule souche, déjà déterminée mais encore multipotente, se différencie à son tour, par multiplication, en cellules souches d'une seule lignée sanguine :
 - C.F.U.-E (C.F.U. Erythroblastic) : cellule souche de la lignée érythrocytaire ;
 - C.F.U.-GM (C.F.U. granulocytic-monocytic) : cellule souche commune aux granulocytes neutrophiles et aux monocytes ;
 - C.F.U.-Eo (C.F.U. Eosinophilic) : cellule souche des granulocytes éosinophiles ;
 - C.F.U.-Bas (C.F.U. Basophilic) : cellule souche des granulocytes basophiles et des mastocytes ;
 - C.F.U.-Meg (C.F.U. mégacaryocytic) : cellule souche de la lignée thrombocytaire chez les mammifères.

1.1.2.2 Compartiment des cellules en voie de maturation

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

Les cellules différenciées subissent par multiplication et différenciation un ensemble de transformations morphologiques qui aboutit à l'apparition d'une

population de cellules morphologiquement différenciées et spécialisées en vue d'une fonction déterminée. Il s'agit d'un phénomène irréversible et unidirectionnel de maturation.

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

1.1.3 Erythropoïèse

1.1.3.1 Phase de multiplication

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

- ✓ Le proérythroblaste
- ✓ L'érythroblaste basophile I
- ✓ L'érythroblaste polychromatophile I
- ✓ L'érythroblaste polychromatophile II
- ✓ L'érythroblaste acidophile

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

Les cellules en multiplication sont regroupées en îlots érythroblastiques, centrés le plus souvent sur un macrophage [46].

1.1.3.2 Phase de maturation

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

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

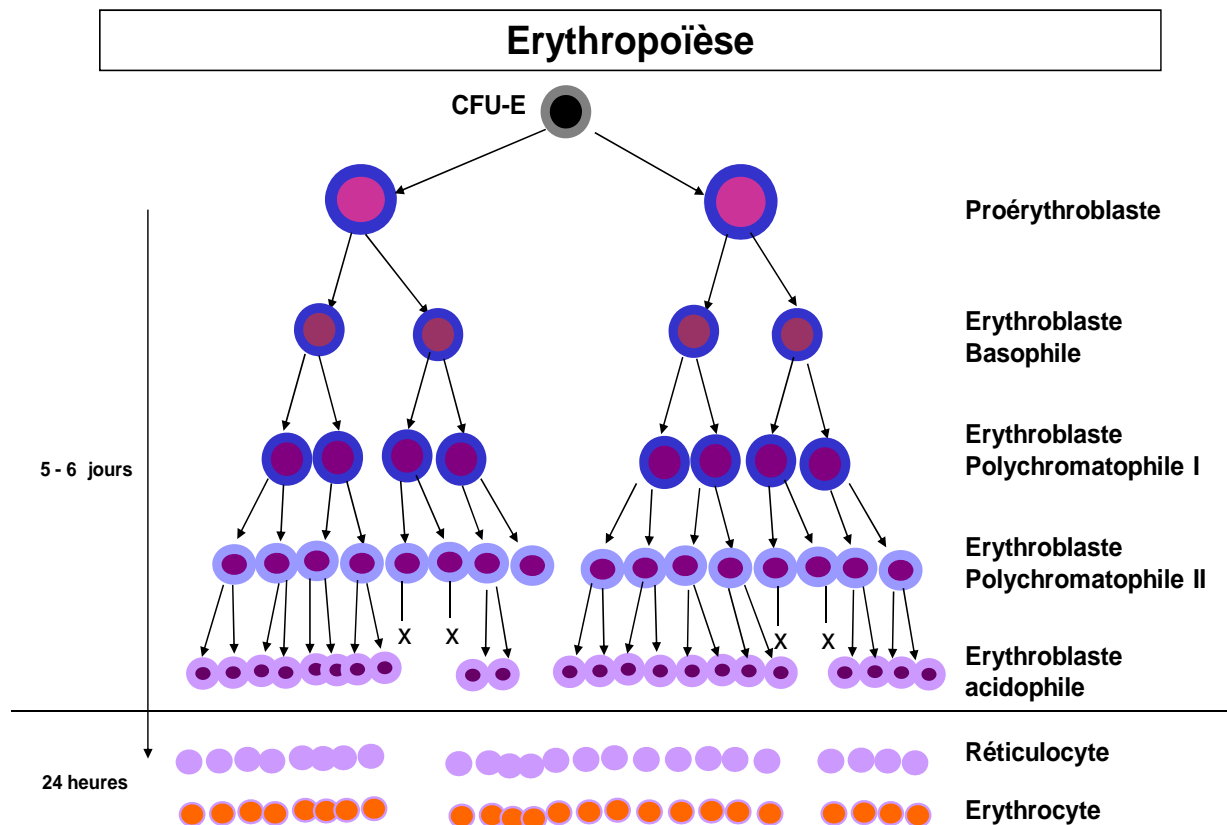


Figure 1: Schéma de l'érythropoïèse [46]

1.1.4 Granulopoïèse et la monocytopoïèse

1.1.4.1 Cellules souches

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

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

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

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

1.1.4.2 Lignée granulocytaire neutrophile

✓ Phase de multiplication

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

- Le myéloblaste : cellule souche différenciée présentant une morphologie identique dans les lignées monocytaire et granulocytaire neutrophile ;
- Le promyélocyte caractérisé par l'apparition de granulations très nombreuses et volumineuses : les granulations azurophiles. L'aspect morphologique est proche dans les trois lignées granulocytaires ;

- Le myélocyte : on note l'apparition de granulations neutrophiles spécifiques et individualisation morphologique définitive de la lignée neutrophile ;
- Le métamyélocyte avec un arrêt des divisions.

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

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

La granulopoïèse neutrophile est caractérisée par :

- Une réduction de la taille de la cellule ;
- Une réduction de la taille du noyau ;
- Une condensation de la chromatine et la forme progressivement incurvée puis polylobée du noyau ;
- L'apparition de granulations d'abord azurophiles puis neutrophiles ;
- L'arrêt définitif des divisions cellulaires.

✓ **Phase de maturation**

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

1.1.4.3 Lignée granulocytaire éosinophile

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

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

1.1.4.4 Lignée granulocytaire basophile

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

Les polynucléaires basophiles et les mastocytes du tissu conjonctif sont certainement issus d'une cellule souche commune hématopoïétique. Le stade auquel s'individualise ces deux lignées n'est pas connu.

On pense cependant que les mastocytes quittent la moelle osseuse au stade de cellules souches indifférenciées et subissent leur maturation morphologique et fonctionnelle dans le tissu conjonctif des organes périphériques. A l'inverse, les

polynucléaires basophiles assurent une maturation complète dans la moelle osseuse avant de gagner le torrent circulatoire puis les espaces conjonctifs.

1.1.4.5 Lignée monocyttaire

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

1.1.4.6 Lignée Mégacaryocytaire

La thrombocytopoïèse est la production médullaire de thrombocytes ou de plaquettes sanguines à partir d'une cellule souche polyploïde : le mégacaryocyte. Elle dure environ cinq jours. Chez les mammifères, le mégacaryocyte se forme par endomitose (divisions nucléaires sans division cytoplasmique) donnant naissance à une cellule géante polyploïde de 32 à 64 N.

Quatre stades morphologiques peuvent être identifiés :

- ✓ Le mégacaryoblaste : cellule souche euploïde capable d'endomitose ;
- ✓ Le mégacaryocyte : cellule polyploïdes dans lesquelles s'élaborent des granulations spécifiques ;
- ✓ Le mégacaryocyte granuleux : riche en granulations ;
- ✓ Le mégacaryocyte thrombocytogène : cellule qui libère les plaquettes par fragmentation de ses prolongements cytoplasmiques.

L'origine cytologique des thrombocytes des oiseaux et des vertébrés inférieurs est actuellement très mal connue. Au microscope électronique, les stades

granuleux puis thrombocytoène sont caractérisés par la synthèse de différents éléments de structure des futures plaquettes.

- ✓ Granulations claires et denses élaborées par l'appareil de Golgi ;
- ✓ Mitochondries nombreuses et de petite taille ;
- ✓ Grains de glycogène agglomérés en amas ;
- ✓ Membrane de démarcation : ce sont des éléments membranaires élaborés très activement et qui correspondent aux futures membranes des plaquettes. Leur origine est controversée. Elles se forment soit par invagination de la membrane cytoplasmique, soit à partir du réticulum endoplasmique. Les deux possibilités n'étant pas incompatibles.

Les prolongements cytoplasmiques déversent directement les plaquettes dans la lumière des capillaires de la moelle osseuse. Un mégacaryocyte thrombocytoène produit entre 4000 et 8000 plaquettes.

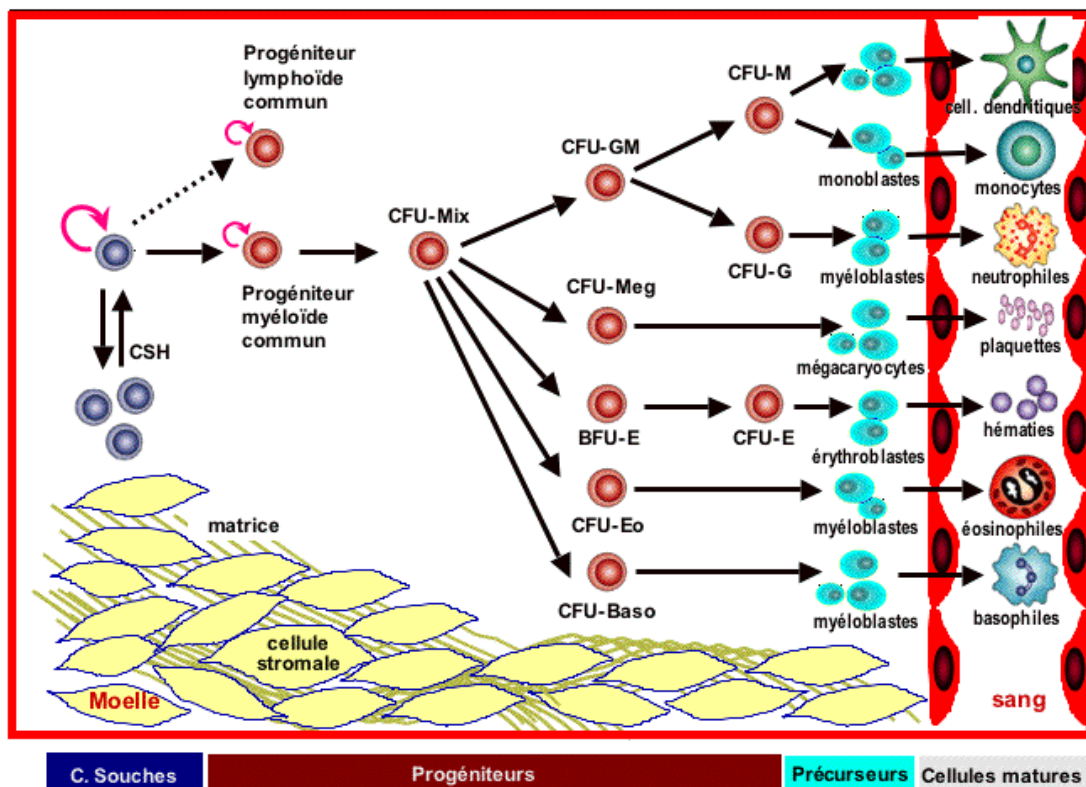


Figure 2 : Schéma de la différenciation des cellules myéloïdes

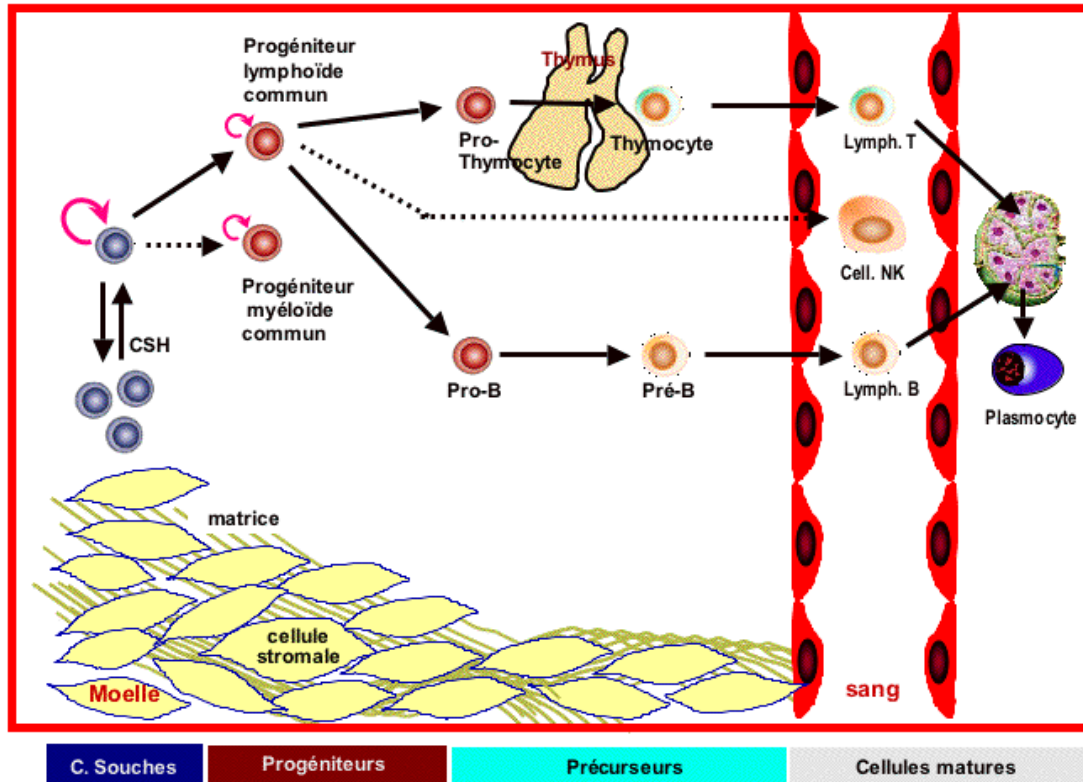
1.1.5 Lymphocytopoïèse

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

- ✓ La moelle osseuse qui produit les lymphocytes immatures ;
- ✓ Les organes lymphoïdes primaires ou centraux dans lesquels s'effectue la différenciation fonctionnelle en lymphocytes B et T ;
- ✓ Les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques dans lesquels les lymphocytes subissent différentes transformations sous l'effet des stimulations antigéniques.

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

On admet actuellement qu'il n'est pas possible de distinguer morphologiquement, dans la moelle osseuse, les lymphocytes et leurs précurseurs (lymphoblastes) des cellules souches non différenciées [48].



Hématologie, Université & CHU de Tours

Figure 3: Schéma de la différenciation des cellules lymphoïdes

1.1.6 Régulation de l'hématopoïèse

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

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

1.1.6.1 Classification des cytokines hématopoïétiques

Les cytokines intervenant dans la régulation de l'hématopoïèse appartiennent à plusieurs groupes de facteurs. On distingue :

- ✓ Certaines interleukines (IL) ;
- ✓ Les CFS (Colony-Stimulating-Factors), cytokines caractérisées initialement par leur pouvoir de multiplication sur les cellules souches en culture et leur capacité à provoquer la formation de colonies *in vitro*. Les CSF interviennent essentiellement sur les lignées granulocytaires et monocytaires et sont pour cette raison, encore désignés sous le nom de facteurs de croissance granulocyto-monocytaires ;
- ✓ Les poïétines, cytokines connues par leur action stimulante sur la production des cellules sanguines *in vivo*.

1.1.6.2 Mode d'action des cytokines hématopoïétiques

On distingue des cytokines à actions multiples et des cytokines à action spécifiques.

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

- ✓ Ils favorisent la différenciation des C.F.U.-GEMM vers une lignée sanguine déterminée ;
- ✓ Ils agissent sur la différenciation des C.F.U.-GM dans le sens myéloblaste ou monoblaste ;
- ✓ Ils interviennent dans la différenciation de la lignée mégacaryocytaire ;

- ✓ Ils potentialisent l'action de l'érythropoïétine sur la lignée érythrocytaire ;
- ✓ L'IL3, en association avec d'autres interleukines (IL6), intervient sur la différenciation des C.F.U.-S en permettant notamment leur entrée dans le cycle mitotique ;
- ✓ Le GM-CSF intervient également en dehors de la moelle osseuse sur la multiplication et la différenciation fonctionnelle des cellules interdigitées.

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

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

- ✓ **Régulation de l'érythropoïèse :** L'érythropoïétine est le principal facteur régulateur de l'érythropoïèse. C'est le facteur de croissance spécifique de la multiplication et de la différenciation des cellules de la lignée érythrocytaire. En présence d'IL3 et de GM-CSF, elle oriente la différenciation des cellules souches déterminées de la lignée érythrocytaire, les C.F.U.-E. Elle agit sur l'évolution de la cellule souche déterminée (C.F.U.-E) en proérythroblaste. Elle favorise la multiplication des érythroblastes et la synthèse de l'hémoglobine. Elle agit sans doute également sur la libération des réticulocytes dans le sang.
- ✓ **Régulation de la granulopoïèse et de la monocytopoïèse :** Plusieurs cytokines distinctes agissent sur la différenciation des lignées sanguines granulocytaires et monocytaires.
 - Le G-CSF (Granulocytic-Colony Stimulating Factor) favorise la différenciation de la lignée granulocytaire neutrophile. Il

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

- Le M-CSF (Monocytic-Colony Stimulating Factor) agit spécifiquement sur la lignée monocyttaire et le renouvellement des macrophages tissulaires ;
- L'interleukine 5 (IL5) stimule spécifiquement la lignée granulocytaire éosinophile. Elle favorise aussi la prolifération des lymphocytes B ;
- L'IL3 intervient également sur la différenciation des polynucléaires basophiles et les mastocytes.

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

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

- L'IL7 sécrétée par les cellules du stroma médullaire (cellules réticulaires) favorise la multiplication et la différenciation des précurseurs B et T ;
- L'IL4 sécrétée par les lymphocytes T activés a une action plus spécifique sur la lignée lymphocytaire B ;

- L'IL2 sécrétée également par les lymphocytes T activés induit principalement la prolifération de la population lymphocytaire T.

Cytokine	Principales propriétés sur l'hématopoïèse
• IL-1	- Augmentation de la diabase, de la margination et de la migration tissulaire des granulocytes neutrophiles
• IL-3, (Synergie avec IL-1, IL-6, IL-11)	- Parfois appelé "multi-C.S.F.", l'IL-3 agit en synergie avec l'IL-1 et l'IL-6 aux stades initiaux de développement des lignées rouge, blanche et plaquettaire - Stimule la différenciation des granulocytes basophiles et des monocytes - Agit en synergie avec l'IL-11 pour la croissance des mégacaryocytes
• IL-4 (Synergie avec IL-3 et IL-9)	- Stimule la croissance et la différenciation des mastocytes et des granulocytes basophiles (en synergie avec l'IL-3 et l'IL-9)
• IL-5	- Facteur de croissance et d'activation des granulocytes éosinophiles (et action sur les lymphocytes B)
• IL-6	- Facteur de croissance et d'activation des granulocytes éosinophiles
• IL-12	- Facteur de croissance des lymphocytes T et des cellules <i>natural killer</i> - Agit également en synergie avec IL-3, S.C.F. et IL-11 - Induit l'hématopoïèse extramédullaire
• IL-13	- Cf. IL-4 - Stimulerait les progéniteurs myéloïdes (?)
• S.C.F.	- Stimule la prolifération des cellules pluripotentes
• GM-C.S.F.	- Stimule la prolifération des précurseurs granuleux et macrophagiques - Active les monocytes et macrophages
• G-C.S.F.	- Agit principalement sur les précurseurs granuleux
• M-C.S.F.	- Agit principalement les progéniteurs des monocytes/macrophages
• TPO ¹	- Stimule la thrombopoïèse
• EPO ²	- Stimule l'érythropoïèse
• IFN de type 1	- Stimule l'activité des cellules <i>natural killer</i> et des lymphocytes T cytotoxiques - Inhibe la production de GM-C.S.F., IL-3, IL-5, IL-6 et IL-11

Figure 4: Les principales cytokines impliquées dans l'hématopoïèse et leurs actions [4]

1.2 Morphologie des cellules sanguines

1.2.1 Hématies

Le globule rouge adulte normal, cellule mature de la lignée érythrocytaire, a la forme d'une lentille biconcave. Son diamètre est de 7 μm . C'est une cellule anucléée chez les mammifères. Elle prend une coloration rose vif au MGG, avec en son centre, une zone plus claire, appelée centre clair.

La forme particulière du globule rouge lui permet :

- ✓ d'avoir une plus grande surface par rapport à son volume que la forme sphérique, ce qui favorise les échanges d'oxygène ;
- ✓ d'avoir une plus grande déformabilité que la forme sphérique, plus rigide. Ceci permet le passage du globule rouge dans la microcirculation, et en particulier dans les pores des sinus de la rate qui n'ont que 0,5 à 2,5 μm de diamètre.

La forme et la taille des globules rouges sont à l'état normal très homogènes et toute variation traduit une anomalie cellulaire.

1.2.2 Granulocytes neutrophiles

Les granulocytes neutrophiles circulants sont des cellules de taille moyenne variant, approximativement, de 10 à 15 micromètres de diamètre selon l'espèce (soit 2 à 2,5 fois le diamètre d'une hématie). La majorité des granulocytes neutrophiles, chez le chien possède un grand noyau segmenté, constitué de 2 à 4 lobes, avec une chromatine dense et de couleur pourpre sur coloration MGG. Le cytoplasme est incolore, voir discrètement rose ou bleuté. Il contient de fines granulations dont l'intensité de coloration, très pâle, ne permet pas de les distinguer chez le chien et le chat.

Un faible nombre de G.N. au noyau allongé et non lobé, en forme de J ou de U ou replié, est trouvé dans le sang circulant d'individu sain. Ce sont des G.N. non segmentés, autrement appelé « band cell » (en anglais), dont la chromatine est moins dense que dans les G.N. matures. Enfin, le stress, par la sécrétion de glucocorticoïdes endogènes peut conduire à l'apparition de G.N. hypersegmentés (soit plus de 5 lobes).

1.2.3 Granulocytes éosinophiles

Les G.E. sont des cellules de taille variant de 12 à 20 micromètres de diamètre, aussi grande ou légèrement plus importante qu'un granulocyte neutrophile. Leur noyau est généralement bilobé dans toutes les espèces avec une chromatine condensée (mais souvent moins que celle des neutrophiles), en mottes, sans nucléole.

La présence de granulations cytoplasmiques rouge-orangées après coloration au MGG (car retenant l'éosine) les différencie des autres leucocytes. Celles-ci peuvent être caractéristiques d'une espèce. Ainsi, chez le chat, ces granulations ont une forme de bâtonnet et occupent la totalité du cytoplasme. Au contraire, chez le chien, le cytoplasme contient des granulations rondes, de tailles variables et réparties irrégulièrement dans celui-ci, ainsi que des vacuoles optiquement vides.

Leur tendance à dégranuler fait que, parfois, les G.E. semblent ne contenir que des vacuoles vides.

1.2.4 Granulocytes basophiles

Les granulocytes basophiles sont des cellules variant de 12 à 20 micromètres de diamètre, de taille équivalente ou généralement supérieure à celle des neutrophiles. Ils possèdent un noyau segmenté qui est caractérisé par une chromatine assez décondensée chez le chat et par un noyau bi à trilobé, en forme

de ruban chez le chien. Le cytoplasme est basophile, de couleur violette à gris clair. Les granulations contenues dans le cytoplasme vont permettre de distinguer les espèces. Ainsi, chez le chien, les granulations sont de couleur pourpre, de taille moyenne et sont rares voire non visibles dans le cytoplasme. Au contraire, chez le chat, les granulations, de couleur bleu lavande, occupent entièrement le cytoplasme au point de se superposer parfois au noyau et de donner l'impression d'un noyau grignoté dit en « trognon de pomme ».

1.2.5 Monocytes

Les monocytes sont les plus grands des leucocytes, avec une taille variant de 15 à 20µm de diamètre. Leur morphologie est variée mais sans différence spécifique ni variations physiologiques.

La forme du noyau est extrêmement variable, irrégulière, peu caractéristique et contient une chromatine irrégulièrement condensée, assez fine dite peignée.

Leur cytoplasme, hétérogène, est bleu-gris pâle avec des vacuoles optiquement vides évoquant un ciel d'orage. On peut y retrouver des éléments phagocytés divers.

1.2.6 Lymphocytes

On distingue deux types de lymphocytes :

- Les petits lymphocytes : qu'ils soient B ou T, ce sont des cellules arrondies de petite taille, variant de 7 à 9 micromètres. . Leur noyau est volumineux (rapport nucléo-cytoplasmique élevé), en général rond (ou encoché), avec une chromatine dense violet-foncé. Le cytoplasme est réduit et bleuté. Il s'agit de la majorité des lymphocytes.
- Les grands lymphocytes : ce sont des cellules de 10 à 15 micromètres de diamètre, leur rapport nucléo-cytoplasmique est de l'ordre de 0,7. Leur noyau est paracentral, arrondi ou ovalaire. La chromatine est

irrégulièrement condensée, souvent mottée ou laquée, et de couleur violette. Le cytoplasme est incolore à bleuté et il peut contenir des granulations rouges dites azurophiles. On les appelle alors lymphocytes granuleux et ils correspondent soit à des lymphocytes Natural Killers (NK), soit à une sous-population de lymphocytes T cytotoxiques.

En routine, les lymphocytes B et T ne sont pas distinguables. Leur mise en évidence nécessite l'utilisation de marqueurs spécifiques.

1.2.7 Plaquettes (thrombocytes)

Sur un étalement sanguin coloré au MGG, ils apparaissent comme de petits éléments hétérogènes en taille et forme, souvent arrondis ou ovalaires. Les plaquettes ont de 2 à 3 μm de diamètre. Leur cytoplasme est clair, légèrement basophile, et contient des granulations azurophiles. A partir d'un échantillon de sang prélevé sur EDTA on observe souvent les granulations regroupées en position centrale (granulomère) et un liseré clair périphérique agranulaire (le hyalomère).

A l'état normal il existe un certain degré d'anisocytose, mieux reflété par la mesure du volume de chaque plaquette et leur graphe de distribution (proposé par de nombreux automates d'hémogramme). Les plaquettes sont bien plus petites que les hématies. Chez le chien adulte en bonne santé, ce volume fluctue entre 7,6 et 8,3 fl. Les jeunes plaquettes sont normalement plus grandes.

En contraste de phase elles apparaissent discoïdes, émettent des prolongements et s'étalent après contact avec le verre (prélèvement citraté). La morphologie des plaquettes se modifie lorsqu'elles sont activées : elles deviennent sphériques, émettent des pseudopodes et les granules se centralisent.

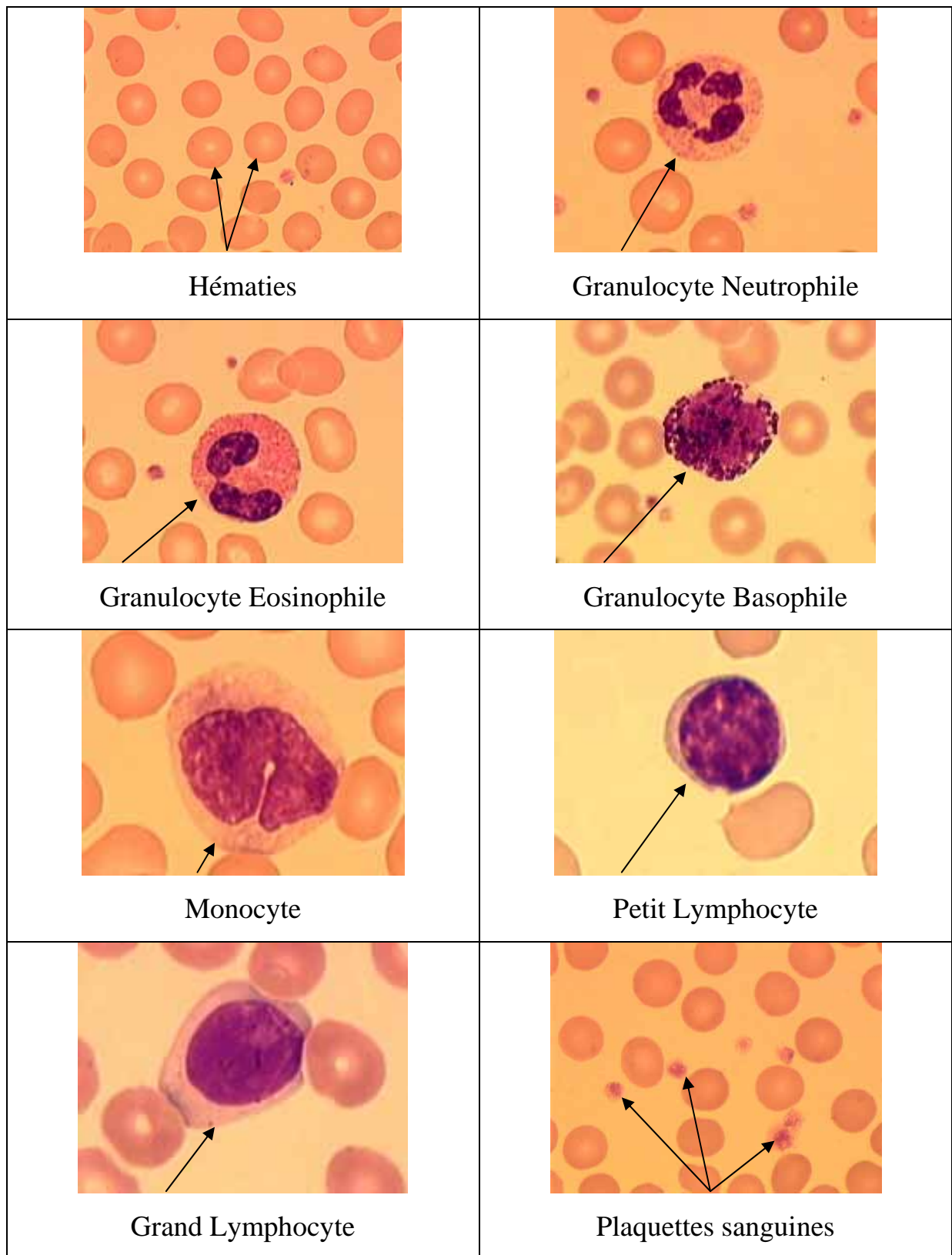


Figure 5: Morphologie des cellules sanguines [48]

1.3 Devenir et fonctions des cellules sanguines

1.3.1 Hématies

1.3.1.1 Devenir : Le réticulocyte, après une maturation de 2 à 3 jours au niveau de la moelle osseuse, gagne le torrent sanguin par diapédèse. Il circule environ 48h dans le sang avant de se transformer en érythrocyte mûr. Les érythrocytes ainsi formés ont une durée de vie de 120 jours environ. Passé ce délai, ils sont détruits dans la rate, le foie et les ganglions lymphatiques par de grandes cellules phagocytaires appelées macrophages.

1.3.1.2 Rôle : La fonction principale des hématies est le transport de l'oxygène des poumons aux tissus et cellules du corps, grâce à l'hémoglobine contenue dans le cytoplasme des globules rouges. Ils jouent également un rôle de régulation du pH sanguin et de transport du CO₂ grâce à l'anhydrase carbonique, une enzyme présente à la surface des hématies qui transforme les bicarbonates en CO₂ ou l'inverse, selon les besoins du corps. Ainsi, les hématies transforment le CO₂ fabriqué par les cellules en bicarbonates, puis elles vont jusqu'aux poumons, où elles retransforment le bicarbonate en CO₂.

1.3.2 Granulocytes neutrophiles

1.3.2.1 Devenir : Produits en 3 à 5 jours dans la moelle osseuse hématopoïétique, les G.N. y sont en transit pendant 24 heures, constituant un pool de réserve mobilisable au besoin. Ils passent ensuite dans le sang où ils restent environ une dizaine d'heures avant de migrer vers les tissus.

Dans le secteur vasculaire, les G.N. se répartissent en un pool circulant et un pool marginal. Le pool marginal est constitué des G.N. adhérant de façon réversible à l'endothélium des vaisseaux sanguins (spécifiquement les veinules et les capillaires). Le ratio entre neutrophiles circulants et marginés est de 1/1

chez le chien (N.B: la numération leucocytaire ne prend en compte que les G.N. circulants).

Certains neutrophiles peuvent être détruits dans la rate, le foie ou la moelle osseuse par les macrophages de ces différents organes. Les neutrophiles passent ensuite dans les tissus, de façon irréversible, pour y assurer leurs fonctions. Ils y survivent quelques jours et meurent par apoptose s'ils ne sont pas détruits avant, dans un foyer infectieux.

1.3.2.2 Rôle : Ils servent de première ligne de défense contre l'invasion des tissus par les microorganismes. Ces cellules ont la capacité de tuer les bactéries mais également de participer à l'élimination d'autres agents infectieux (virus, protozoaire ou levures).

1.3.3 Granulocytes éosinophiles

1.3.3.1 Devenir : Il est similaire aux G.N. Leur durée de production et de stockage médullaires est comparable (2 à 6 jours). La durée du passage des éosinophiles dans le sang est très courte (quelques heures environ). Ils gagnent ensuite les tissus où ils persistent quelques jours avant d'être détruits en jouant leur rôle ou par apoptose. On peut toutefois noter que les G.E. sont des cellules à fort tropisme tissulaire. Ainsi, ils se localisent essentiellement sous les épithéliums de surface, aux portes d'entrée d'antigènes (tractus respiratoire, gastro-intestinal, urogénital et peau).

1.3.3.2 Rôle : La spécificité des éosinophiles tient en partie à leurs granulations. Celles-ci contiennent notamment diverses protéines avec des propriétés cytotoxiques.

Les propriétés phagocytaires du granulocyte éosinophile sont plus réduites que celles du neutrophile et s'exercent à l'encontre de certaines bactéries, levures,

virus et complexes antigène-anticorps. Les mécanismes de bactéricidie sont comparables toutefois à ceux du G.N.

1.3.4 Granulocytes basophiles

1.3.4.1 Devenir : Les G.B. sont produits dans la moelle osseuse puis mis en circulation dans le sang en 2,5 jours au maximum. Le temps de demi-vie de circulation est approximativement de 6 heures avant de migrer dans les tissus, où ils peuvent persister plusieurs semaines dans les conditions physiologiques.

1.3.4.2 Rôle : Leur rôle est très proche de celui des mastocytes. Ces derniers n'apparaissent cependant que dans un contexte pathologique.

Les G.B. interviennent, par dégranulation, dans de nombreux phénomènes inflammatoires. Ils peuvent aussi antagoniser l'hémostase par libération d'histamine ou promouvoir une réaction hémostatique par libération de facteurs d'activation plaquettaire (PAF). Ils jouent aussi des rôles dans les réactions de défense contre les bactéries et les virus, dans les pathologies chroniques affectant de nombreux organes et, probablement, dans la cytotoxicité tumorale. La fonction exacte des basophiles dans ces réponses est cependant encore inconnue. Leur potentiel de phagocytose est, en tout cas, faible.

La réaction inflammatoire, ainsi initiée, est régulée en temps et en intensité par la coordination avec les G.E. En effet, ces derniers, attirés sur le lieu de l'inflammation par l'IL-4 dégranulée, sont impliqués dans l'inactivation de la plupart des produits sécrétés par les G.B. et les mastocytes.

1.3.5 Monocytes

1.3.5.1 Devenir : Tout comme les granulocytes, après leur production médullaire qui dure environ 3 jours, les monocytes sont libérés dans la

circulation sanguine où ils circulent 1 à plusieurs jours avant de gagner les tissus.

1.3.5.2 Rôle : Les monocytes représentent un continuum cellulaire. Une fois dans les tissus, ils sont appelés macrophages ou histiocytes et réalisent des fonctions identiques et spécifiques :

- Phagocyter les éléments étrangers à l'organisme (bactéries, protozoaires, levures, cellules infectées et éléments inertes) reconnus comme tels, ou après opsonisation par des anticorps ou par le complément ;
- Réguler la réponse immunitaire et l'inflammation ;
- Présenter les antigènes aux lymphocytes (étape fondamentale de la réponse immunitaire) ;
- Participer à l'homéostasie cellulaire, par l'élimination des cellules sénescents, mortes ou anormales, et au métabolisme du fer, par destruction des hématies âgées ou anormales (hémolyse extravasculaire) et par recyclage du fer de l'hémoglobine.

Ainsi, par leur appartenance au système des phagocytes mononucléés (SPM) c'est-à-dire possédant des capacités macrophagiques ou de présentation d'antigène, les monocytes ont la particularité de participer à la fois aux défenses spécifiques et non-spécifiques de l'organisme.

1.3.6 Lymphocytes

1.3.6.1 Devenir : Tout comme pour les autres leucocytes, l'origine des lymphocytes est médullaire (sauf lors de la vie fœtale où celle-ci n'est pas exclusive).

Si la différenciation des lymphocytes pré-B en B a lieu aussi dans la moelle osseuse, celle des lymphocytes pré-T en T se déroule dans le thymus. Le thymus et la moelle osseuse constituent ainsi les organes lymphoïdes primaires.

Chez l'animal adulte, les lymphocytes se répartissent ensuite dans les organes lymphoïdes secondaires constitués par la rate, les amygdales, les nœuds lymphatiques et autres tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. L'essentiel des lymphocytes du sang circulant du chien sain est constitué de lymphocytes T (environ 30% de lymphocytes B contre 70% de lymphocytes T).

A l'inverse des granulocytes et des monocytes dont la circulation est unidirectionnelle de la moelle osseuse vers le sang puis les tissus, les lymphocytes circulent en permanence entre le sang, les tissus, les ganglions et la lymphe. La durée de transit dans le sang circulant à chaque circuit est estimée entre 8 et 12h. Ainsi, contrairement aux autres leucocytes, la durée de vie des lymphocytes circulants est importante, de plusieurs semaines à plusieurs mois, voire plusieurs années.

1.3.6.2 Rôle : Les lymphocytes sont essentiellement responsables de la réponse immunitaire spécifique.

1.3.7 Plaquettes

La propriété principale des plaquettes est une fonction pro coagulante. Au cours du processus de la coagulation, qui aboutit à la formation du caillot sanguin, les plaquettes sont activées dès le phénomène de constriction des vaisseaux endommagés. Elles libèrent alors le contenu de leurs granulations, comme la sérotonine. Le rôle de cette dernière est d'entretenir le phénomène de vasoconstriction qui, en diminuant le calibre des vaisseaux, réduit le saignement. Les plaquettes possèdent aussi la propriété de s'agréger entre elles et d'adhérer à la paroi des vaisseaux. En interagissant et en fusionnant par le biais de leurs membranes, elles peuvent se rétracter, concourant ainsi à isoler le caillot et à le rendre imperméable.

Les plaquettes peuvent également majorer la réaction inflammatoire par la sécrétion de facteurs de perméabilité vasculaire, leur aptitude à promouvoir le chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles (P-sélectine), et par la synthèse des prostaglandines.

CHAPITRE II : ANALYSES SANGUINES

2.1 Rappels sur les paramètres sanguins

2.1.1 Etablissement des intervalles de référence

Pour tout test de laboratoire, le clinicien doit comparer le résultat de l'analyse à un intervalle de référence. Pour chaque type cellulaire, celui-ci se veut représentatif des valeurs physiologiques du chien en bonne santé. Il est obtenu à partir de l'étude d'un échantillon important d'individus. L'échantillonnage des animaux dans la population saine se base dans la plupart des cas sur l'absence de maladie apparente à l'examen clinique. Pour une précision acceptable, on considère qu'au moins 120 individus doivent être étudiés pour établir des intervalles de référence, le nombre minimum étant de 40 [39]. L'intervalle de référence est souvent choisi comme l'intervalle central comprenant 95% des résultats. Les limites supérieure et inférieure excluent donc dans ce cas 2,5% des valeurs trouvées chez les animaux en bonne santé [34]. Ces limites ne permettent donc pas de faire une distinction stricte entre bonne santé et maladie, puisque 5% des animaux en bonne santé ne sont pas dans l'intervalle de référence [22].

Cependant, les courbes de résultat des animaux sains et non sains se chevauchent à leurs extrémités. Exclure 5% des valeurs trouvées chez des animaux sains pour établir l'intervalle de référence permet d'exclure les valeurs d'animaux potentiellement « non sains » de celui-ci. Ainsi, limiter l'intervalle de référence à 95% des valeurs obtenues est un compromis qui rend le test plus sensible pour la détection des animaux « non sains » [12 ; 39].

On peut constater des divergences selon les auteurs. Ces désaccords proviennent de plusieurs types de variations :

- Le choix de la population d'animaux dits normaux : prise en compte ou non des variations physiologiques liées à la race, l'âge et au sexe, au mode de vie, à la gestation ...
- Le nombre d'individus de l'échantillon ;
- Les conditions de collecte du sang ;
- Les erreurs analytiques dépendant de la méthode de numération.

Ainsi, en ce qui concerne les automates, les valeurs de référence doivent être données par les fabricants. Mais un praticien réalisant une formule manuelle pourra se sentir désorienté face aux différentes valeurs limites proposées par les publications d'hématologie. De plus, la méthode manuelle utilisée dans l'établissement de ces résultats est rarement mentionnée dans les manuels. Il s'agit notamment du nombre de cellules comptées, la zone de lecture sur le frottis et de la méthode de balayage. La précision du comptage augmente ainsi avec le nombre de cellules comptées. Mais un intervalle de référence obtenu à partir de numérations de 1000 cellules par exemple ne peut pas être en théorie utilisé par le praticien qui se contentera d'une numération de 100 cellules [34].

Un autre facteur influençant les valeurs de référence est la méthode statistique de détermination de l'intervalle. Lorsque la distribution des valeurs est gaussienne, celui-ci est représenté par l'étendu des valeurs selon deux SD (standard déviation ou écart-type) autour de la moyenne.

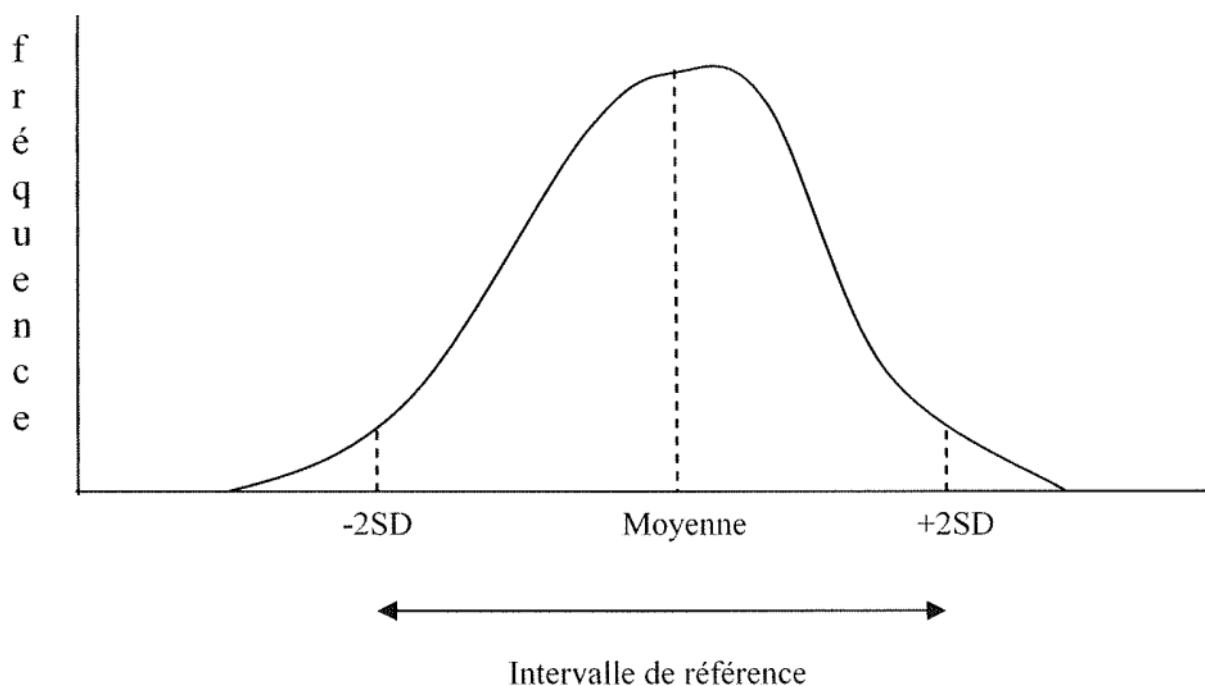


Figure 6: Courbe de résultat d'un test pour des animaux sains et construction de l'intervalle de référence [22]

Mais les résultats ne sont pas toujours distribués de façon « normale ». Il est alors nécessaire de faire une analyse statistique utilisant des tests non paramétriques plus complexes [22]. Par exemple, la distribution des résultats de comptage des éosinophiles n'est pas gaussienne (les valeurs s'étendent plus du côté droit de l'histogramme). Ce qui expliquerait notamment les différences observées pour la limite supérieure de l'intervalle de référence [26 ; 41].

De plus, la détermination de l'intervalle dépend également de la prise en compte ou non, pour le calcul, des valeurs extrêmes éloignées des autres. Celles-ci élargissent l'intervalle de référence et rendent le test moins sensible pour la détection des animaux malades. C'est pourquoi elles sont parfois exclues [39].

Enfin, le praticien sera bien souvent confronté à des difficultés d'interprétation de résultats obtenus par des laboratoires d'hématologie humaine. La numération automatisée est peu fiable puisque les appareils sont calibrés pour l'espèce humaine, et la méthode manuelle dépend de l'expérience du laborantin vis-à-vis de l'espèce canine. En effet, la morphologie des cellules sanguines chez l'espèce

canine présente quelques particularités et les fluctuations physiologiques et pathologiques du leucogramme des carnivores ne s'interprète pas toujours de la même manière que les leucogrammes humains [7]. En aucun cas, les valeurs usuelles fournies sur les feuilles de résultat de ces laboratoires ne sauraient correspondre aux valeurs usuelles attendues dans une espèce différente de l'homme.

2.1.2 Valeurs usuelles

2.1.2.1 Valeurs usuelles des hématies

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

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

Les index érythrocytaires calculés : On distingue le volume globulaire moyen (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

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

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

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

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

Tableau I : Valeurs usuelles des érythrocytes de chien [32]

	Valeurs extrêmes	Unité
Ht	38-57	%
NG	5,6-8,5	$10^{12}/L$
Hb	13,2-19,3	g/dl
Réticulocytes	20-80	$10^9/L$
VGM	62-71	fl
CCMH	32-36	g/dl

2.1.2.2 Valeurs usuelles des leucocytes circulants

Les valeurs normales du leucogramme du chien en bonne santé sont données par de nombreux auteurs. Mais l'ouvrage de référence est bien souvent le « Schalm's veterinary hematology » [18]. Le tableau suivant donne les valeurs usuelles chez le chien adulte (âgé de un à huit ans) d'après Jain [18] et celles données par Crespeau [7] et Sodikoff [38]. Les moyennes et les valeurs extrêmes sont exprimées en unité internationale (10^9 cellules /L de sang).

Tableau II : Valeurs usuelles du leucogramme de chien adulte [7 ; 18 ; 38]

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

3.1 Frottis sanguin

3.1.1 Intérêt

Un étalement de sang coloré au May-Grünwald-Giemsa permet d'examiner au microscope :

- Les hématies (morphologie),
- Les plaquettes (appréciation de la richesse de l'étalement et morphologie)
- Les globules blancs (richesse de l'étalement, formule leucocytaire et morphologie).

La valeur de ces renseignements, dont la plupart ne peuvent être rapportés par les compteurs automatiques actuels, ne doit pas être sous-estimée.

3.1.2 Réalisation d'un frottis sanguin

Le frottis sanguin est un test de laboratoire de procédure simple, rapide et nécessitant peu de matériel. Il est ainsi largement répandu puisqu'un simple microscope permet au praticien vétérinaire de le réaliser dans son propre cabinet. Cependant, la qualité du frottis est cruciale pour une analyse correcte des cellules sanguines et quelques règles s'imposent pour éviter tout artefact susceptible de mener à des difficultés voire des erreurs d'interprétation.

3.1.2.1 Collecte de sang

Elle doit se faire idéalement dans le calme, sur un animal au repos, le stress pouvant induire des modifications hématologiques notables. La prise de sang peut se faire à deux niveaux :

- Sang périphérique : Certains auteurs le préfèrent pour les frottis destinés à la recherche de parasites sanguins (tels que les piroplasmes chez le chien) car ces derniers sont plus nombreux au niveau des capillaires. On récupère sur une lame une goutte de sang (en évitant de prendre la

première) s'écoulant d'une petite incision faite à la face interne de l'oreille après désinfection à l'alcool ou l'éther et séchage [13]. L'étalement de cette goutte de sang doit être réalisé immédiatement, avant que le sang ne coagule.

- Sang veineux : Il est prélevé en plus grande quantité afin de réaliser l'hémogramme et notamment la numération totale et différentielle des globules blancs nécessaire à l'établissement de la formule sanguine. Le sang prélevé à la veine (jugulaire, céphalique ou saphène) est recueilli par écoulement direct dans un tube sous vide contenant un agent anticoagulant. L'anticoagulant de choix est l'Acide Ethylène Diamine Tétracétique (EDTA) utilisé sous forme de sel dissodique ou dipotassique. L'héparine est déconseillée car elle entraîne des agrégats plaquettaires et peut être responsable d'une teinte bleutée du plasma, rendant la lecture du frottis coloré difficile [17].

Des tubes, contenant la quantité adéquate d'anticoagulant lorsqu'ils sont convenablement remplis, sont disponibles dans le commerce. Immédiatement après la collecte, ils doivent être agités doucement par retournement (dix au minimum) afin de bien mélanger sang et anticoagulant [28].

Après plusieurs heures de conservation du sang avec l'EDTA, des modifications morphologiques apparaissent telles que des gonflements cellulaires (les lymphocytes peuvent être confondus avec des cellules néoplasiques), une hypersegmentation ou pycnose nucléaire (les cellules sont difficiles à identifier), et une vacuolisation du cytoplasme (pouvant être interprétée comme un changement toxique).

3.1.2.2 Etalement

Avant la réalisation de l'étalement, le tube EDTA est délicatement retourné pour homogénéiser et remettre en suspension les éléments cellulaires. Une goutte de sang est déposée à 1 cm du bord mat d'une lame porte-objet. Le bord d'une

seconde lame est placée au contact de la première suivant un angle de 45° environ. L'arête est entre la goutte et le bord non mat de la 1ère lame. On glisse ensuite la seconde lame vers la goutte de sang qui s'étale le long de l'arête par capillarité. On pousse enfin, d'un mouvement continu, rapide et régulier la seconde lame vers l'extrémité opposée de la première. Le frottis ainsi obtenu ne doit atteindre ni les bords ni les extrémités de la lame. Certains auteurs opèrent à l'inverse, c'est-à-dire en tirant au lieu de pousser.

L'étalement est ensuite séché à l'air par agitation (ou à l'aide d'un sèche-lame). Le séchage est important, sans quoi des bulles ou des artefacts peuvent apparaître, notamment sur la morphologie des hématies (aspect crénelé, corps réfringents, ...).

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.

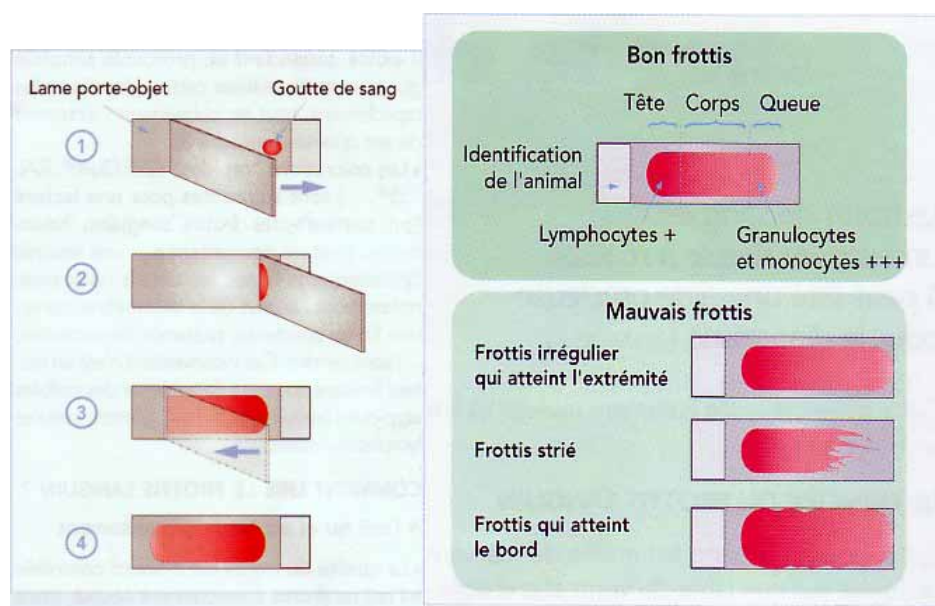


Figure 7: Réalisation et Contrôle de qualité d'un frottis sanguin [24]

3.1.2.3 Coloration

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).

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.

Artéfacts [13 ; 17]: 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 du à un vieillissement du frottis (après un mois).

3.1.3 Méthodes de lecture du frottis sanguin

3.1.3.1 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 [2] ;
- 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 [36] ;
- 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 [37].

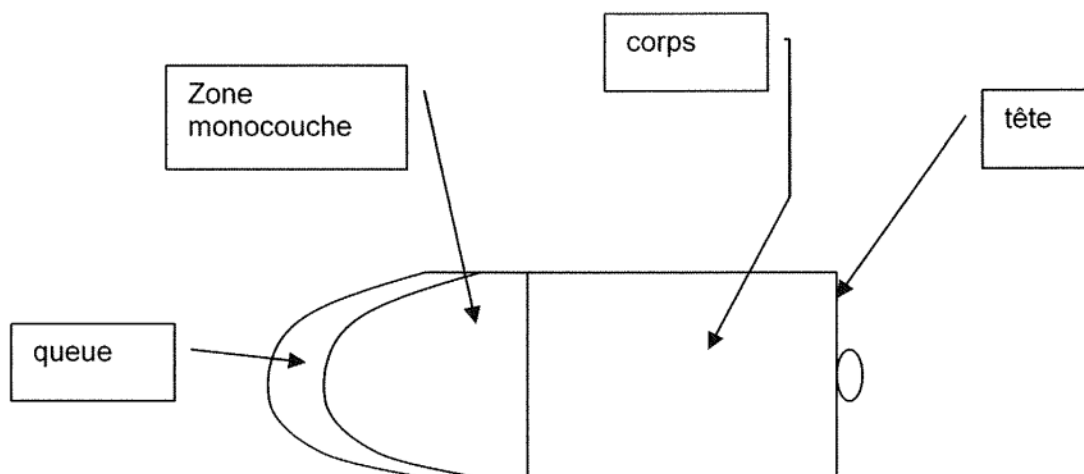


Figure 8: Représentation schématique d'un frottis sanguin sur une lame de verre [11]

Dans la majorité des publications, la zone de comptage des leucocytes, lorsqu'elle est précisée, est la zone monocouche. Elle est parfois désignée comme le secteur précédent les franges [10] ou l'extrémité proche de la queue [20] ou encore l'endroit où les érythrocytes sont voisins sans cependant se toucher [27]. C'est une zone ni trop mince ni trop épaisse qui permet une observation plus facile. Elle est moins sujette à des erreurs d'interprétation dues à des superpositions ou à des artefacts. Les cellules blanches y sont aplaties et exposent ainsi une grande surface nucléaire pour une évaluation optimale des détails cytoplasmiques et nucléaires [42].

3.1.3.2 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 [43]. 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 [27]. 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 [18].

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.

3.1.3.3 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 [31].

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 [34]. 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. Dubreuil G. et al recommandaient de compter 400 à 500 cellules contre 100 selon Pratt P.W. en 1998 par exemple. On peut tenter d'expliquer cela par deux hypothèses. La première est que la précision obtenue lorsqu'on augmente le nombre de cellules serait insuffisante. La deuxième est que depuis l'apparition du typage automatisé des 5 types leucocytaire dans le milieu des années 70, l'intérêt trouvé dans la numération manuelle a changé, du moins en médecine humaine. Les appareils comptent des milliers de cellules et donc fournissent une meilleure précision pour le comptage différentiel que la méthode manuelle. Celle-ci tend à devenir un simple outil de validation des résultats anormaux donnés par les automates [23].

3.1.3.4 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 valable d'un ouvrage l'autre et au sein d'une même publication, certains auteurs décrivent même plusieurs techniques possibles. Ainsi, Kerr [20] 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.

La méthode en créneaux semble l'emporter dans la plupart des publications et c'est elle que l'on trouve dans la norme NCCLS [31]. La technique précise est cependant rarement décrite. Ainsi, Lord-Dube et *al* [27] conseillent 3 méthodes en créneaux différentes que l'on peut décrire dans les figures suivantes :

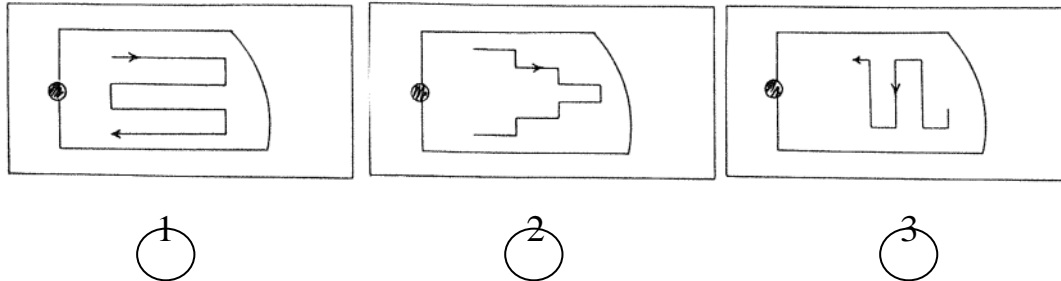


Figure 9: Les trois méthodes de créneaux [27]

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.

3.2 L'automatisation en hématologie

Sans être totalement mis à l'écart, le microscope a laissé la place dans des laboratoires d'hématologie humaine à des automates de plus en plus performants à partir des années 1965 pour la numération globulaire et 1975 pour la numération leucocytaire [40]. La précision et l'utilité clinique de ces appareils en ce qui concerne la numération des leucocytes (totale et différentielle) ont été

validées par de nombreuses études. Ainsi leur popularité a beaucoup grandi depuis quelques années et continuera à le faire dans les années à venir [23]. La majorité d'entre eux fournissent actuellement une numération des cinq types de leucocytes voire six types avec les granulocytes immatures. Ainsi en hématologie humaine, la méthode de comptage manuelle, laborieuse et peu précise, est devenu un outil de vérification des échantillons sanguins déclenchant une alarme par les logiciels intégrés aux automates. Les laboratoires qui appliquent ce type de stratégie démontrent que 70 à 80% des analyses ne présentent pas d'alarme et qu'un contrôle cytologique est inutile lorsque les paramètres quantitatifs sont normaux [33]. Cependant, ces appareils sont calibrés pour une espèce donnée. Les automates d'hématologie humaine ne peuvent être utilisés pour la formule leucocytaire du chien sans logiciel adapté. Les laboratoires vétérinaires peuvent s'équiper d'analyseurs hématologiques adaptés à différentes espèces animales. Mais ces automates ne fournissent pas à l'heure actuelle de numération leucocytaire différentielle aussi complète et fiable qu'en humaine. La formule sanguine automatisée chez le chien est bien souvent une formule à trois types leucocytaires (monocytes, lymphocytes et polynucléaires). Ce qui est pour certains auteurs une simple approche de la formule leucocytaire. L'examen microscopique resterait à l'heure actuelle indispensable pour établir la formule sanguine [8 ; 16].

3.2.1 Principe de fonctionnement des automates

Les automates d'hématologie actuels fonctionnent sur la base de trois principes différents :

- L'appréciation de l'épaisseur des couches cellulaires sur le sang centrifugé, dite analyse quantitative du « Buffy-Coat » (Q.B.C.) ;
- La détection volumétrique des particules par variation d'impédance (principe Coulter) ;

- La détection optique par diffraction (cytométrie en flux).

Les deux premiers procédés permettent d'obtenir à la fois la numération des globules blancs, une approche de la formule leucocytaire ainsi que, pour certains automates, une courbe de répartition du volume des leucocytes. Cette courbe permet d'apprécier la formule leucocytaire de façon semi-quantitative, sachant qu'elle se présente sous la forme de deux dômes : celui des lymphocytes est à gauche et celui des granulocytes à droite.

Le principe de détection optique par diffraction est fondé sur l'analyse et la quantification de différents paramètres obtenus à partir des signaux lumineux émis par une cellule traversée par un faisceau laser. L'étude de la diffraction optique des signaux en provenance de chaque cellule permet de connaître sa taille et sa « granulosité » (présence de 15 granulations cytoplasmiques). Les automates d'hématologie qui utilisent ce principe d'analyse affichent la numération et la formule leucocytaire.

Pour certains cytomètres, les cinq types de leucocytes sont caractérisés en combinant deux paramètres : la taille cellulaire et la mesure de l'activité peroxydasique des granulations (possible grâce au couplage d'un automate de cytochimie au cytomètre).

3.2.2 Intérêts et limites

Les avantages de l'automatisation sont d'assurer une meilleure reproductibilité, une plus grande précision des résultats et une bonne rapidité d'exécution.

Son inconvénient principal est le coût de l'appareil. Des risques d'erreur existent, quel que soit l'appareil utilisé. Pour obtenir un résultat fiable, il convient de ne pas oublier les règles élémentaires de l'étalonnage et du contrôle de qualité de ces appareils sophistiqués.

Aucun automate n'a la possibilité d'identifier avec suffisamment de fiabilité, et dans les conditions requises de débit, des populations autres que les cinq populations observées chez le sujet adulte sain.

Pour les automates à variation d'impédance, toute particule dont le volume est celui d'une plaquette, d'un globule rouge ou d'un leucocyte peut être compté comme tel.

Pour les automates Q.B.C., il arrive que la séparation entre les différentes couches, sous l'impulsion de phénomènes pathologiques, soit floue ou irrégulière, en raison de la modification de la densité des cellules.

Pour les cytomètres en flux, des erreurs d'identification des granulocytes basophiles sont décrites chez le chien et le chat. De plus, chez le chat, la faible activité péroxydasique des granulocytes éosinophiles peut conduire à sous-estimer cette population cellulaire, avec les cytomètres en flux qui utilisent ce paramètre.

L'interprétation correcte des résultats de l'hémogramme obtenus avec un automate d'hématologie nécessite un examen complémentaire : le frottis. En effet, celui-ci peut permettre de confirmer la numération et formule leucocytaire (ou, tout du moins, sa vraisemblance). Mais il donne aussi accès à des renseignements morphologiques primordiaux que l'automate ne peut pas fournir.

CHAPITRE III : VARIATIONS DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES

3.1 Variations physiologiques

3.1.1 Hématies

Les variations physiologiques ou « non pathologiques » des globules rouges sont souvent de faible amplitude. Elles peuvent être dues à plusieurs facteurs à savoir :

- ✓ L'âge : Les premières semaines de la vie sont marquées par une libre circulation des réticulocytes qui se traduit par une augmentation du volume globulaire moyen ;
- ✓ La gestation : Une baisse de l'hématocrite (Ht), du taux d'hémoglobine et de la numération globulaire est constatée lors du dernier tiers de la gestation ;
- ✓ La race : L'Ht est de 62 - 66% chez les Greyhounds normaux alors que les valeurs usuelles canines sont comprises entre 37 et 55%. La limite inférieure est observée chez les Akita et la limite supérieure chez les Caniches, Boxers, Bergers allemands, Beagles et Teckels normaux ;
- ✓ Le stress aigu : La peur en l'occurrence peut entraîner une splénocontraction avec comme résultat une augmentation de l'hématocrite pouvant dépasser même la limite usuelle supérieure.

3.1.2 Leucocytes

Les variations physiologiques des leucocytes peuvent se traduire à la fois par des variations qualitatives, mis en évidence par la lecture du frottis sanguin, mais aussi quantitatives de la numération et formule leucocytaire.

3.1.2.1 Influence de l'âge

Le nombre de globules blancs est plus élevé à la naissance (en moyenne $16.10^9/L$) et diminue progressivement jusqu'à la valeur habituellement observée

chez l'adulte (en moyenne $11.10^9/L$) vers l'âge de six ou sept mois (c'est-à-dire l'âge de la puberté pour les races de chien de taille moyenne comme les Beagles utilisés dans de nombreuses études). D'après les pourcentages de la formule leucocytaire, on peut remarquer que c'est plus particulièrement la population lymphocytaire qui est plus importante chez les jeunes que chez l'adulte. Les lymphocytes représentent 32 à 45% des leucocytes chez le chien de un à trois mois contre 12 à 20% chez le chien de plus de sept mois [14].

3.1.2.2 Influence du sexe

Il semble ne pas exister de différence significative entre les individus mâles et femelle [30]. Cependant durant la gestation, le nombre de leucocytes (en particulier les granulocytes neutrophiles) semble augmenter pour atteindre environ $19.10^9/L$ au terme [1]. Il diminue ensuite au cours de la lactation et se maintient ensuite jusqu'au sevrage.

3.1.2.3 Influence de la race

Il ne faut pas oublier que les chiens utilisés dans la plupart des études notamment celles établissant des valeurs usuelles sont bien souvent des Beagles. Les Labradors et les Golden Retrievers possèdent des proportions de neutrophiles inférieurs et de lymphocytes supérieurs aux chiens d'autres races [30].

3.1.2.4 Leucocytose physiologique

Chez les chiens, des leucocytoses secondaires à une sécrétion d'adrénaline (ou d'épinéphrine) sont observées lors de peur, d'effort musculaire et d'excitation. Ce phénomène est rapide et fugace (dès quelques minutes jusqu'à une demi-heure) et plus marqué chez les jeunes que chez les adultes. Il s'agit d'une pseudo-neutrophilie qui est due à la démargination des G.N., sous l'effet de l'adrénaline, vers le secteur circulant et d'une lymphocytose concomitante qui

pourrait résulter d'une mobilisation des lymphocytes issus du canal thoracique ou d'une incapacité de ces cellules à migrer vers les tissus.

3.1.2.5 Formule de stress

Elle ne doit pas être confondue avec la leucocytose physiologique. En effet, elle est liée à l'augmentation de la sécrétion endogène ou à l'administration exogène de corticoïdes.

Même s'il s'agit toutes les deux de leucocytoses, elles n'ont, à la fois, pas la même origine et pas les mêmes caractéristiques. En effet, la leucocytose de la formule de stress va s'accompagner d'une neutrophilie, d'une lymphopénie, d'une éosinopénie et parfois d'une monocytose chez le chien.

✓ La neutrophilie est secondaire à :

- une libération accrue de G.N. à partir du pool de réserve médullaire vers le sang circulant ;
- une diminution de migration des G.N. du secteur circulant vers le secteur tissulaire ;
- une démargination des G.N. vers le secteur circulant.

✓ la lymphopénie résulte de la modification de la circulation lymphocytaire, avec une accumulation des lymphocytes dans le secteur lymphatique (lymphe et organes lymphoïdes) ;

✓ l'éosinopénie découle d'une diminution du passage des G.N. médullaires vers le secteur circulant ainsi que d'une migration tissulaire accrue ;

✓ la monocytose est occasionnellement remarqué chez le chien et résulterait d'une mobilisation des monocytes marginés.

La lymphopénie et l'éosinopénie sont les modifications les plus constantes de la formule de stress.

Les circonstances génératrices de stress entraînant une sécrétion accrue de corticoïdes endogènes sont multiples : la douleur, les lésions traumatiques ou

chirurgicales, les températures corporelles extrêmes, la fin de gestation chez la chienne ...etc.

3.1.2.6 Influences diverses constatées

Certaines variations sont rapportées notamment lié à l'espèce, la période de la journée ou encore la saison. Ainsi, des études, en particulier sur des Beagles [1], ont mis en évidence que les jeunes Beagles avaient un nombre de leucocytes bas vers 6h du matin qui augmentait progressivement jusqu'à un maximum à 2h, en relation avec l'activité physique de l'animal. Cette particularité n'est pas retrouvée chez les Beagles adultes. Cependant, il a été constaté un nombre plus élevé de neutrophiles chez les vieux Beagles relativement aux autres espèces.

D'autre part, une variation saisonnière des leucocytes d'environ $2,5 \cdot 10^6/L$ de sang a été relevée, chez des Beagles, entre le début de l'été (où la valeur est la plus élevée) et l'automne et l'hiver.

Ainsi, la grande variabilité des valeurs physiologiques de la population leucocytaire impose au clinicien une grande prudence. Seuls les écarts nettement grands par rapport aux valeurs usuelles seraient aisément interprétables [19].

3.2 Variations pathologiques

3.2.1 Hématies

3.2.1.1 Polyglobulie

La polyglobulie correspond à une augmentation du nombre de globules rouges. Elle s'accompagne généralement d'une augmentation de l'hémoglobine et de l'hématocrite.

Mais la numération sanguine n'est qu'un élément d'orientation. Le diagnostic ne peut être affirmé que par la mesure de la masse sanguine. Celle-ci permet de distinguer : les polyglobulies relatives par hémococoncentration (déshydratés, brûlés, ...) ou les pseudopolyglobulies microcytaires (thalassémies hétérozygotes) des polyglobulies vraies.

3.2.1.2 Anémies

Définition : L'anémie est définie par une diminution du taux de l'hémoglobine (et non par une diminution du nombre des globules rouges). L'anémie correspond à une diminution de la masse totale de l'hémoglobine de l'organisme ce qui se traduit par une diminution des valeurs données par l'hémoграмme.

Dans quelques circonstances (grossesse, splénomégalie, élévation des immunoglobulines) la diminution des valeurs de l'hémoграмme est liée à une hémodilution par excès de plasma entraînant une fausse anémie

Classification physiopathologique : Elle repose d'abord sur la numération des réticulocytes. Si les réticulocytes sont augmentés, l'anémie est dite régénérative. Par contre, s'ils sont normaux ou diminués, l'anémie est dite arégénérative

✓ Anémie régénérative : La moelle augmente sa synthèse car la cause de l'anémie est extra-médullaire. Il peut s'agir d'une hémorragie ou bien d'une hémolyse pathologique extravasculaire ou intra-vasculaire. Par exemple, les anémies hémolytiques auto-immunes, les anomalies de la membrane du globule rouge (sphérocytose), les hémoparasitoses (Babésiose) ...

✓ Anémie arégénérative : Le problème se situe dans la moelle.

Le paramètre important est alors le VGM : S'il est normal l'anémie est dite normocytaire, s'il est diminué l'anémie est microcytaire et s'il est augmenté l'anémie est macrocytaire.

La TCMH est importante. Si elle est normale, l'anémie est normochrome et si elle est diminuée l'anémie est hypochrome.

NB : normalement il n'y a pas d'augmentation de la TCHM.

D'où la classification :

- anémie normochrome normocytaire : anémie inflammatoire, anémie des insuffisances endocriniennes...
- anémie normochrome macrocytaire : carence en folates, carence en vitamine B 12 (maladie de Biermer) ;
- anémie hypochrome microcytaire : carence martiale, thalassémies.

3.2.2 Granulocytes neutrophiles

Les niveaux de production et de libération de neutrophiles par la moelle osseuse, les échanges entre le pool marginé et circulant, les phénomènes de migration tissulaire (au-delà des capacités de la moelle) peuvent influencer le nombre de G.N. mesuré lors de la réalisation d'un hémogramme.

3.2.2.1 Neutropénie

La neutropénie est une diminution du nombre de granulocytes neutrophiles au dessous de $3.10^9/L$ chez le chien. Elle peut relever de différents mécanismes :

- Neutropénie par diminution de la production médullaire (dysgranulopoïèse) ;
- Neutropénie par consommation tissulaire accrue ;
- Neutropénies mixtes : Ce sont les neutropénies que l'on peut attribuer à des mécanismes à la fois périphériques et centraux.

3.2.2.2 Neutrophilie

On parle de neutrophilie en ces termes quand le nombre de granulocytes neutrophiles dépasse les $50.10^9/L$ chez le chien. Les maladies inflammatoires en sont les principales causes, en particulier les inflammations suppurées chroniques.

3.2.3 Granulocytes éosinophiles

3.2.3.1 Eosinopénie :

En présence d'une leucopénie, on observe rarement une éosinopénie seule ; il y a toujours une diminution des autres cellules ou au moins des neutrophiles. La limite inférieure de l'intervalle des valeurs usuelles pour les éosinophiles étant proche de zéro, il est difficile de donner un seuil chiffré pour définir une éosinopénie et de lui accorder une signification pathologique.

3.2.3.2 Hyperéosinophilie :

Elle est définie par une numération des éosinophiles circulants supérieure à $1,3.10^9/L$ chez le chien. Les principales causes d'hyperéosinophilie sont :

- ✓ Les infestations parasitaires ;
- ✓ Les inflammations et/ou hypersensibilité d'origine non-parasitaire ;
- ✓ Les maladies endocriniennes : L'hypoadrénocorticisme. Il est caractérisé par une insuffisance de production de glucocorticoïdes et/ou de minéralocorticoïdes.

3.2.4 Granulocytes basophiles

3.2.4.1 Basophilie :

Chez les carnivores domestiques, seules les basophilies marquées ou en augmentation persistante, d'une valeur supérieure à $0,3 \cdot 10^9$ cellules/L de sang, devront être considérées comme pathologiques. Les causes de basophilies ne sont pas toujours faciles à mettre en évidence, même avec un examen minutieux.

3.2.4.2 Mastocytémie :

La présence de mastocytes dans le sang peut être le reflet d'un état réactif ou néoplasique. Chez le chien, le mastocytome cutané est la pathologie mastocytaire la plus fréquente et cette tumeur peut métastaser aux nœuds lymphatiques locaux, au foie, aux reins, à la moelle osseuse ainsi qu'à d'autres tissus. Cependant, la mastocytémie canine connaît bien d'autres origines que celle tumorale. Dans ces cas, la granulosité des mastocytes peut varier de forte à très faible.

3.2.5 Monocytes

3.2.5.1 Monocytopénie :

Une diminution du nombre de monocytes est rarement décrite chez les carnivores domestiques. Aucune signification particulière n'est associée aux monocytopénies. Le défaut de production monocyttaire accompagne la défaillance hématopoïétique complète des anémies aplasiques et des leucopénies observées dans beaucoup de syndromes myéloprolifératifs. Cependant, une monocytopénie est d'une importance moindre comparée à l'urgence vitale que représente une neutropénie.

3.2.5.2 Monocytoses :

Les élévations bénignes des monocytes sanguins sont généralement de faible amplitude et reflètent des situations où le besoin est généralement accru en macrophages, en particulier des infections chroniques. On s'intéresse à une augmentation du nombre de monocytes circulant au dessus de $1,3 \cdot 10^9$. Ces monocytoses sont fréquentes (en particulier, les infections chroniques et la piroplasmose) chez le chien et peuvent avoir un intérêt pronostic. Cependant, la monocytose qui se produit lors d'une leucopénie au cours d'une infection qui a causé une consommation importante de G.N. est souvent de bon signe car elle témoigne de la récupération de la moelle. En effet, les monocytes sont synthétisés plus rapidement, ainsi la monocytose précède la neutrophilie.

3.2.6 Lymphocytes

3.2.6.1 Lymphopénie :

La lymphopénie se définit par une diminution des lymphocytes circulants inférieur à $1 \cdot 10^9$ /L chez le chien. Tout comme l'éosinopénie, la lymphopénie isolée est rarement responsable d'une leucopénie. Elle peut se produire dans plusieurs circonstances:

- ✓ par diminution de la production ou modification de la circulation des lymphocytes ;
- ✓ par augmentation de la destruction ;
- ✓ par modification de la répartition entre les différents secteurs ;
- ✓ par augmentation des pertes.

3.2.6.2 Lymphocytose :

La lymphocytose se définit par une augmentation du nombre des lymphocytes circulants supérieur à $4,8 \cdot 10^9$ /L chez le chien. Elle peut se produire dans diverses circonstances :

- ✓ par une stimulation antigénique ou une lymphocytose réactionnelle ;
- ✓ par vaccination : Elle peut également entraîner une lymphocytose avec mise en évidence de lymphocytes activés dans le sang circulant ;
- ✓ par hypoadrénocorticisme ;
- ✓ lors de certaines hémopathies lymphoïdes (certains lymphomes, leucémies lymphoïdes).

3.2.7 Plaquettes

3.2.7.1 Thrombopénie :

C'est une diminution du nombre des plaquettes diagnostiquée lorsque leur nombre est inférieur à 100.10^9 /L. Les conséquences d'une thrombopénie sévère sont des hémorragies caractéristiques : les hémorragies cutanéomuqueuses. Les origines de ce déficit sont multiples : destruction des plaquettes par des auto-anticorps (purpura thrombopénique auto-immun), agglutination au cours du traitement par l'héparine, leucémies, destruction par des virus comme celui des hépatites.

3.2.7.2 Thrombopathies :

Ce sont des anomalies qualitatives ou fonctionnelles touchant les plaquettes. Elles sont caractérisées par un temps de saignement allongé, et peuvent avoir des origines médicamenteuses, malignes ou génétiques.



DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : Matériel et Méthodes

1.1 Cadre de l'étude

1.1.1 Région de Dakar

Situé à l'extrême ouest du Sénégal et du continent africain, la région de Dakar est une presqu'île de 550 km². Elle ne représente ainsi que 0,28% de la superficie nationale. Elle est contigüe à la région de Thiès à l'Est et entourée par l'océan atlantique sur ses limites Nord, Ouest et Sud. La région de Dakar ou encore presqu'île du Cap Vert est localisée entre les méridiens 17°10 et 17°32 (Longitude Ouest) et les parallèles 14°53 et 14°35 (Latitude Nord). Elle occupe ainsi une position stratégique très intéressante sur les routes internationales de l'Atlantique méridionale et centrale et forme la partie du continent la plus rapprochée de l'Amérique.

Au Sénégal, le climat est de type tropical subdésertique ponctué par une saison chaude et humide (été) et une saison sèche. Par contre, la région de Dakar, ayant une position avancée dans l'atlantique, est caractérisé par un microclimat de type côtier. Ce dernier est fortement influencé par les alizés maritimes et la mousson qui s'établissent respectivement de Novembre à Juin et de Juillet à Octobre suivant les directions N-NW et S-SE. Les précipitations de la saison des pluies sont générées par la mousson qui provient de l'alizé issu de l'anticyclone de Sainte Hélène. Le pic des pluies se situe aux mois d'Août à Septembre avec respectivement des maxima de 493 mm et 365 mm. La saison sèche se situe entre les mois d'Octobre à Juin. La température moyenne annuelle est de 24°C. Cette température, inférieure à celle de la zone nord (29°C), est fortement influencée par l'effet de la mer.

Dakar est l'une des plus grandes villes d'Afrique. Sa croissance démographique est importante et son nombre d'habitants s'accroît rapidement. D'une population de 400 000 habitants dans les années 70, elle a quadruplé en 20 ans à cause de

l'exode rural. Selon les prévisions officielles, il serait de 1 075 582 habitants en fin 2007 et pourraient être de 1 270 631 en Décembre 2015.

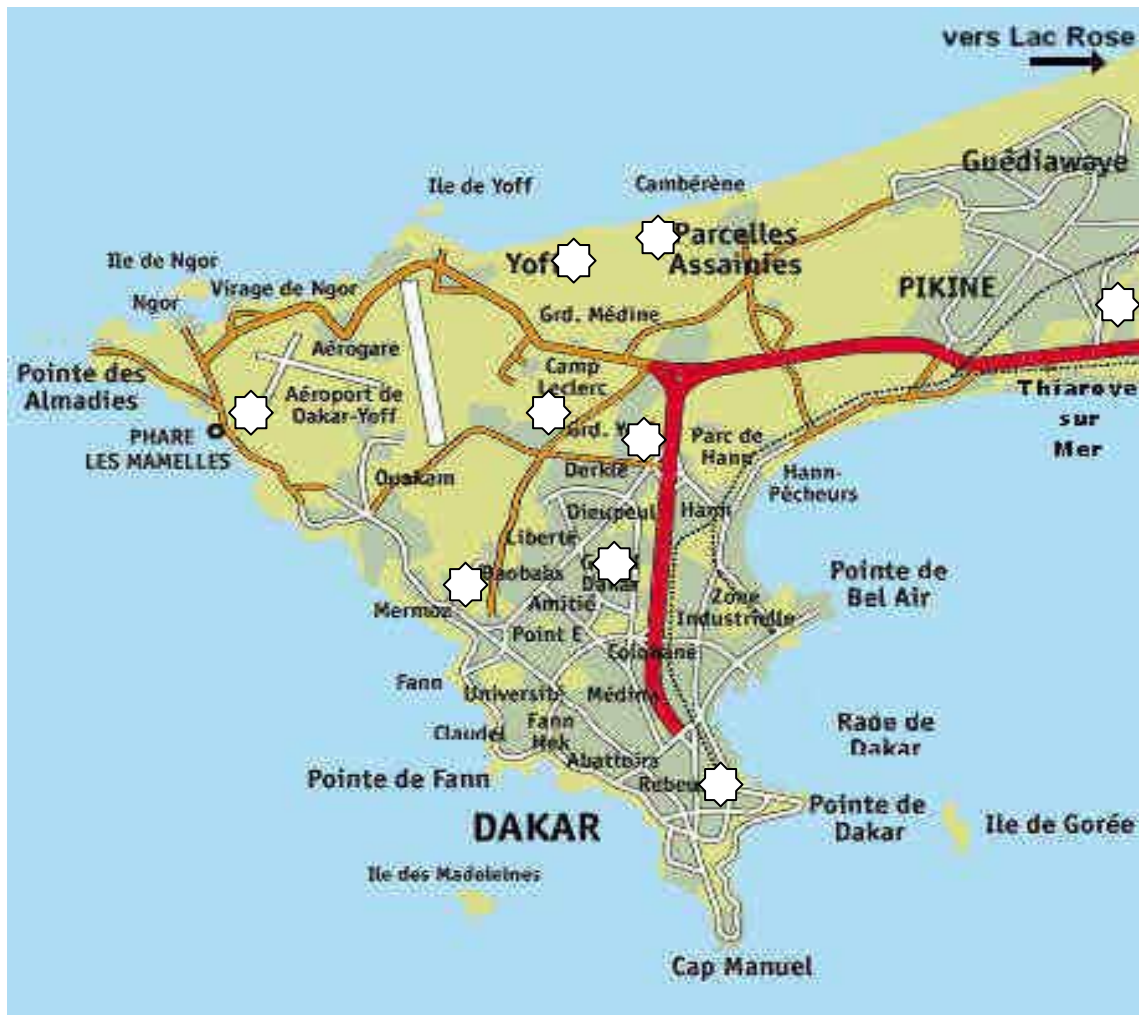


Figure 10: Carte de la région de Dakar (* = sites de prélèvement) [44]

1.1.2 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'Ecole Inter-états des Sciences et Médecine Vétérinaire de Dakar. Ce laboratoire est doté d'un compteur cellulaire automatique de type MS9-3.Vet mais aussi du matériel manuel de routine d'hématologie.

1.2 Matériel

1.2.1 Animaux

Notre étude a porté sur 96 chiens apparemment en bonne santé. 90 d'entre eux sont nés et ont grandi dans la région de Dakar. Ils nous viennent de familles adoptives, de cliniques vétérinaires et du corps militaire (Gendarmerie et Base militaire française). Ces chiens présentent une grande diversité de par leur race, sexe, âge, alimentation et localité. Toutefois, un lot de 6 sujets vient de France et séjourne transitoirement à Dakar depuis 3 mois.

1.2.2 Matériel de prélèvement sanguin

- Gants en latex ;
- Aiguille stérile de prélèvement ;
- Porte tube ;
- Tube mauve (avec anticoagulant : EDTA) ;
- Coton et alcool pour antisepsie et hémostase.

1.2.3 Matériel de laboratoire

1.2.3.1 Matériel de réalisation des étalements sanguins

- Lames porte-objet ;
- Coton et éther (pour dégraisser) ;
- Micropipette ;
- Sèche lame ;
- Crayon (pour numérotation des lames).

1.2.3.2 Matériel et produits de coloration des étalements **sanguins**

- Eau courante ;
- Eau distillée ;
- Pipettes de 2 et 10ml ;
- Fiole ;
- Solution de May-Grunwald ;
- Solution de Giemsa ;
- Bleu de crésyl brillant ;
- Alcool ;
- Acide acétique ;
- Bleu de méthylène.

1.2.3.3 Matériel de lecture

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

1.2.3.4 Matériel de numération automatique

- Compteur cellulaire automatique de type MS9-3.Vet (Figure 11);
- Réactifs pour automate ;
- Eau de javel.



Figure 11: Compteur cellulaire automatique de type MS9-3.Vet [47]

1.3 Méthodes

1.3.1 Echantillonnage

Notre étude a débuté par un travail de terrain réalisé au niveau de la région de Dakar. Ce travail consistait initialement à faire des prélèvements de sang chez des sujets cliniquement sains amenés en consultation dans des cliniques vétérinaires. Au départ, 6 cliniques vétérinaires spécialisées en médecine canine ont été visées (Figure 14). Cette stratégie n'a cependant pas abouti à cause de plusieurs facteurs :

- Les chiens amenés en consultation étaient essentiellement des animaux malades. Une faible proportion était cliniquement saine en l'occurrence ceux amenés pour des rappels vaccinaux, ...etc.
- La clientèle canine est très exigeante. Envisager un prélèvement sanguin (traumatisant) sur un sujet sain, sans motif valable, se solde souvent par un refus du propriétaire.

- L'effectif des prélèvements envisageables dans de telles conditions est relativement très faible.

Par la suite, nous avons eu recours à des dresseurs de chiens. Ces derniers élevaient pour la plupart des chiens. Ils avaient également beaucoup de connaissances qui en élevaient (agences de gardiennage, familles adoptives de chiens, ...etc.). Ce qui nous a permis d'avoir un pool assez important pour réaliser ce travail. De plus, il s'agissait de sujets en bonne santé, bien nourris et vivant dans différentes localités de la région de Dakar.

L'étude a ainsi porté sur un effectif de 96 chiens cliniquement sains de plusieurs races, de différentes classes d'âge, des deux sexes et d'alimentation différente.

1.3.2 Prélèvement sanguin

Les analyses sanguines ont été réalisées à partir de sang veineux prélevé au niveau de la veine céphalique à l'aide d'une aiguille montée sur un porte tube et collecté dans des tubes sous vide contenant de l'EDTA.

Après avoir humidifié et nettoyé le point de ponction à l'aide d'un bout de coton imbibé d'alcool, la ponction est effectuée au niveau de la veine après l'avoir comprimée en aval. Après le prélèvement, une pression au point de ponction a été effectuée pendant au moins deux minutes pour éviter une éventuelle hémorragie.

Une fois remplis, les tubes sont immédiatement retournés plusieurs fois pour homogénéiser le sang et l'anticoagulant puis identifiés. Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de commémoratifs indiquant la race, le sexe, l'âge, le poids, le type d'alimentation, l'état général de l'animal ...etc.

1.3.3 Frottis sanguin

1.3.3.1 Etalement

Les frottis ont été réalisés sur des lames porte-objets préalablement dégraissées avec de l'éther. Les étalements ont été réalisés dans les 6 heures de temps après le prélèvement sanguin. Délai au-delà duquel une lyse et une déformation des leucocytes est observée.

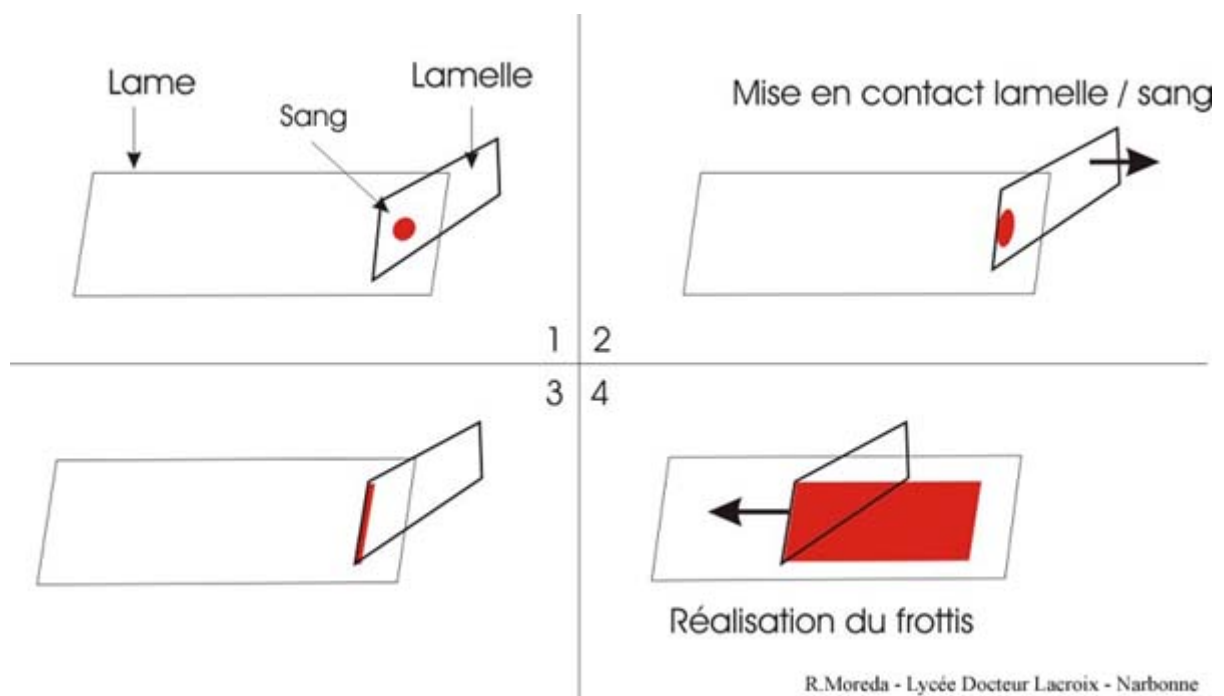


Figure 12: Réalisation d'un frottis sanguin

1. Une petite goutte de sang est déposée à 1cm de l'extrémité d'une lame ;
2. Une seconde lame inclinée à 45° est mise en contact avec la goutte de sang ;
3. Le sang diffuse par capillarité le long du bord de la lame ;
4. La lame est poussée dans le sens de la flèche de façon à étaler le sang en une mince couche uniforme. Le sang doit suivre la lame et non être poussé par elle.

La couche ainsi obtenue est immédiatement séchée à l'aide d'une sèche lame.

1.3.3.2 Coloration

Durant notre étude, nous avons utilisé deux types de coloration : La coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG) et celle au Bleu de Crésyl Brillant (BCB).

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

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

- Le **May-Grünwald**, contenant un colorant acide (l'éosine) et un colorant basique (le bleu de méthylène) présents sous forme d'éosinate de bleu de méthylène.
- Le **Giemsa**, contenant aussi de l'éosine et un colorant basique (l'azur de méthylène) présent sous forme d'éosinate d'azur de méthylène.

Ces deux colorants sont solubilisés dans l'alcool méthylique et sont de ce fait inactifs. C'est le contact avec l'eau qui leur confère le pouvoir colorant. Les sels se dissocient alors en colorants acide (éosine) et basique (bleu et azur de méthylène).

Les éléments cellulaires acides sont colorés sélectivement par les colorants basiques et sont qualifiés de basophiles (ADN, cytoplasme des lymphocytes). Les éléments cellulaires basiques sont colorés par les colorants acides et sont qualifiés d'acidophiles ou d'éosinophiles (cytoplasme des hématies, ...)

La technique coloration est la suivante :

- Fixer le frottis par le méthanol en l'immergeant dans le May Grünwald pur pendant trois minutes ;

- Ajouter la même quantité d'eau neutre ou plonger la lame dans un bain de May Grünwald dilué au 1/2 en eau neutre durant une minute ;
- Plonger la lame dans un bain de Giemsa dilué au 1/10^{ème} durant 20 minutes (Giemsa lent) ;
- La rincer à l'eau neutre et sécher à l'aide du sèche lame

➤ **Coloration au Bleu de Crésyl Brillant (BCB)**

Elle est utilisée pour mettre en évidence les réticulocytes grâce aux traces d'ARN ribosomal et de protoporphyrine qu'ils possèdent encore (fin de synthèse de l'hémoglobine) pendant environ 36 heures. Ces substances peuvent être précipitées et colorées par des colorants basiques (Bleu de Crésyl Brillant, Bleu de Unna ou New Methylen Blue). Ils apparaissent alors comme un réseau de grains et de filaments plus ou moins important selon l'âge de la cellule. Cette numération présente un intérêt dans le cadre des anémies pour distinguer les anémies arégénératives des anémies régénératives.

A l'opposé de la coloration au MGG, celle-ci est réalisée avant l'étalement sanguin. Le principe est le suivant :

- Mélanger volume à volume le sang à tester et le colorant (deux volumes de sang pour un de colorant en cas d'hématocrite faible) ;
- Laisser reposer durant 10 minutes ;
- Réaliser un frottis mince, le sécher rapidement et l'observer au grossissement 1000x.

1.3.3.3 Lecture

Deux types de lecture ont été réalisés durant ce travail :

➤ La formule leucocytaire : Dans le but d'éviter certaines omissions et d'acquérir un automatisme, nous avons standardisé notre méthode de lecture. Nous avons choisi comme zone de lecture la zone monocouche et le déplacement au dessus de la lame se fait selon un trajet en créneaux. La lame est ainsi parcouru jusqu'à dénombrer un minimum de 200 leucocytes. On procède ensuite au décompte des différents types de globules blancs qu'on rapporte en pourcentage par rapport au nombre total de leucocytes.

➤ Le taux de réticulocytes : On dénombre dans plusieurs champs toutes les hématies colorées en bleu vert (200 cellules au total) puis on distingue parmi ces derniers les réticulocytes (cellules présentant sur ce fond bleu des filaments violet-noir).

Le taux de réticulocytes est obtenu en rapportant en pourcentage le nombre de réticulocytes par rapport au nombre total de cellules comptées.

1.3.4 Numération leucocytaire manuelle

Le comptage des globules blancs a été réalisé à l'aide de la cellule hématimètre de Mallassez. La cellule de Mallassez a un volume total de 1mm^3 et contient 5 bandes horizontales et 5 bandes verticales, délimitant ainsi 100 petits carrés.

Le sang total est tout d'abord dilué à $1/200^{\text{eme}}$ dans le liquide de Lazarus. Ce dernier est composé de :

- 5ml d'acide acétique,
- 2 gouttes d'une solution préparée à partir de la dissolution de 1g de bleu de méthylène dans 100ml d'alcool,
- 100ml d'eau distillée.

La dilution se fait par ajout de 0,995ml de la solution de Lazarus à 5 μ l de sang. La solution de Lazarus entraîne une lyse des hématies, rendant ainsi plus facile la lecture des leucocytes.

A l'aide d'une pipette automatique, on remplit la cellule de Mallassez qu'on place ensuite dans une chambre humide pendant 15mn avant le comptage au microscope photonique à l'objectif 40x.

Le nombre de cellules par mm^3 de sang total est obtenu à l'aide de la formule suivante :

$$\mathbf{N} = \mathbf{n/v} \times \mathbf{F}$$

N= nombre de cellules par mm^3 de sang total,

n= nombre de leucocytes comptés dans les cinq bandes horizontales,

v= volume de comptage ($0,5\text{mm}^3$),

F= facteur de dilution (200).

1.3.5 Numération automatique

Durant cette étude, nous avons utilisé un compteur automatique de type MS9-3.Vet. Cet appareil fonctionne sur la base de deux principes :

- La détection volumétrique des particules par variation d'impédance électronique ;
- La détection optique par diffraction à l'aide d'un compteur de flux cellulaire.

Le compteur automatique permet, sur un échantillon de sang, d'effectuer un comptage cellule par cellule pour chacune des populations sanguines. Du fait de la grande variabilité de concentration de chacune de ces cellules, une séparation préalable des populations cellulaires par dilution est nécessaire. Une première dilution sert au comptage des leucocytes et à la mesure de l'hémoglobémie après lyse des hématies et des plaquettes. Puis une deuxième dilution plus importante permet le comptage des hématies et thrombocytes (présents en plus grand nombre).

L'utilisation d'agent de lyse partielle des leucocytes permet de différencier les sous populations en fonction de la taille de la cellule et du noyau. Les lymphocytes subissent un rétrécissement de leurs membranes sur leurs noyaux

(hydrolyse du cytoplasme), les granulocytes restent intacts et les monocytes subissent une action intermédiaire. Le compteur automatique établit alors un histogramme volumétrique et donne une approche de la formule leucocytaire à trois types (lymphocytes, monocytes et granulocytes). Lorsqu'ils sont en nombre suffisant, l'appareil donne également une estimation du nombre d'éosinophiles. Le compteur automatique MS9-3.Vet fonctionne grâce à son logiciel de fabrication française piloté par Windows et son processeur Pentium intégré. Les résultats peuvent être visualisés sur l'écran couleur ou être imprimés à l'aide de toute imprimante compatible avec Windows.

La réalisation d'une analyse avec ce compteur est assez simple. Elle se fait de manière suivante :

- On calibre d'abord l'appareil en fonction de l'espèce animale ;
- On homogénéise de sang en retournant le tube plusieurs fois ;
- Le tube est alors positionné dans l'adaptateur de tube ;
- Cliquer sur le menu « Analyse » et sélectionner « Lancer ».

1.3.6 Transcription et classification des données

Les résultats obtenus avec le compteur automatique sont tout d'abord comparés aux résultats issus des méthodes manuelles puis validés lorsqu'elles concordent avec ces derniers. Pour permettre un traitement plus aisé, les données des feuilles de résultat d'analyse ont été transcrites en tableau avec un tableur informatique (Microsoft Excel 2007®). Chaque ligne correspond à l'analyse d'un sujet. Le tableau de recueil des données comporte des colonnes répertoriant un certain nombre d'informations à savoir :

- Les commémoratifs : nom, race, sexe, âge et alimentation.
- Les paramètres érythrocytaires : NG, Hb, Ht et taux de réticulocytes.
- Les paramètres leucocytaires : numération totale et formule leucocytaire.
- La numération plaquettaire.

Par ailleurs, les animaux sont classés selon la race, le sexe, l'âge et le type d'alimentation.

- La race : deux sous-groupes ont été identifiés à savoir les chiens de race locale (Laobé) et les chiens de race exotique (Bergers allemand et belge, Malinois, Rottweiler, ...etc.) ;
- Les sexes mâle et femelle ;
- Les sujets ont été distingués en jeunes chiens (< 8 mois) et en chiens adultes (> 8 mois) ;
- On a défini trois types d'alimentation. L'alimentation de type industriel composée exclusivement de pâté et/ou de croquettes. L'alimentation ménagère à base de riz, légumes, viande, ...etc. Enfin l'alimentation mixte incluant les deux types précités.

1.3.7 Méthodes statistiques

1.3.7.1 Profil hématologique

Les valeurs moyennes et les intervalles de référence des paramètres hématologiques étudiés ont été obtenus suite au traitement des informations de notre base de données par le logiciel SPSS (Statistical Package for Social Sciences).

1.3.7.2 Facteurs de variations

A l'aide du même logiciel, nous avons réalisé des diagrammes montrant l'évolution des différents paramètres sanguins en fonction des facteurs de variations (Sexe, Race, Age et Alimentation). Les différences observées nous ont permis de formuler des hypothèses. Puis, nous avons fait une analyse de régression au seuil de 5% en calculant les probabilités critiques.

Si la probabilité critique d'un paramètre sanguin est inférieure à 0,05 alors la différence observée pour ce paramètre s'avère significativement influencées par le facteur de variation concerné.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Résultats

2.1.1 Caractéristiques des animaux

2.1.1.1 Lieu de résidence

La figure 13 montre, en termes de fréquences, la répartition de l'échantillon étudié en fonction du lieu de résidence.

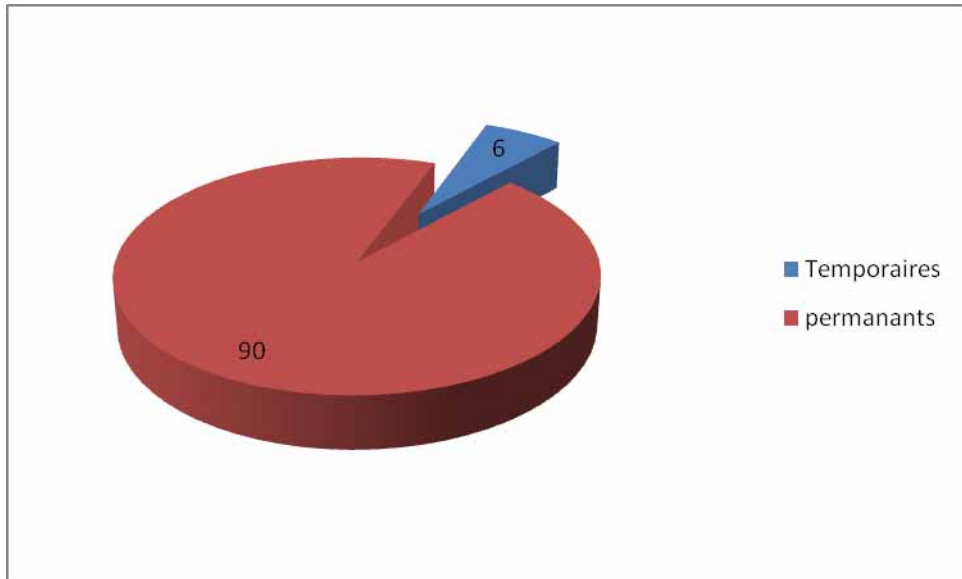


Figure 13 : Répartition des chiens de l'étude selon le statut résidentiel

A travers la figure 13, on constate une prédominance nette des chiens résidents permanents dans la région de Dakar avec un effectif de 90 sujets soit 93% des chiens de l'étude. Le reste de l'effectif est constitué de chiens résidents de façon temporaire à Dakar depuis trois mois et venant de France. Il s'agit d'un lot plutôt homogène composé de cinq bergers belges et d'un berger allemand. Il s'agit de mâles, de même classe d'âge (adulte) et nourris exclusivement aux croquettes.

Par contre, la population des chiens résidents permanent présente une grande hétérogénéité selon la race, l'âge, le sexe ou le type d'alimentation. Ces disparités sont mises en évidence à travers les figures 18, 19, 20 et 21.

2.1.1.2 Race

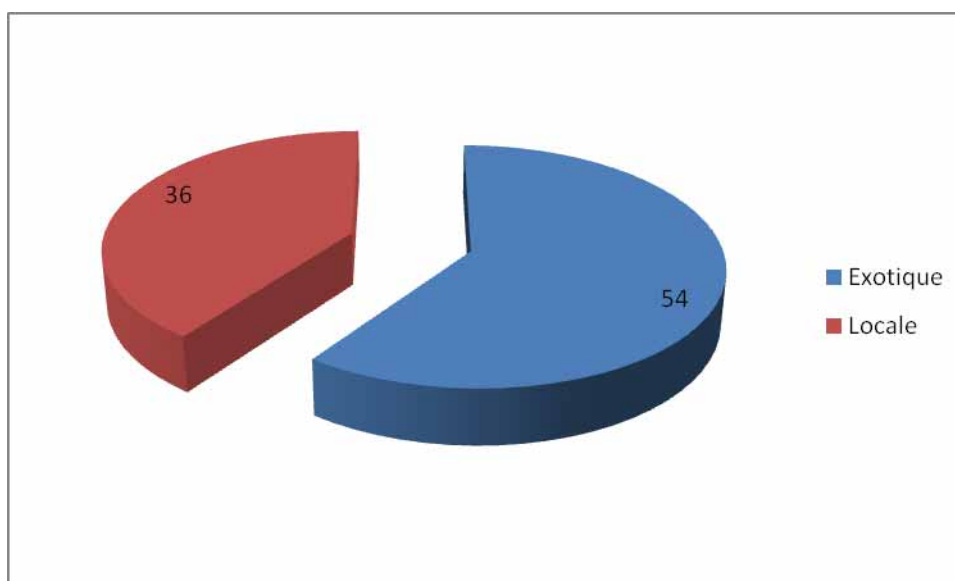


Figure 14 : Répartition des chiens de l'étude en fonction de la race

Sur les 90 chiens résidents permanents inclus dans notre étude, 36 sont de race locale (Laobé) soit 40% et 54 de race exotique soit 60%. Cette dernière est composée, entre autres, de bergers allemands, de rottweilers, de malinois, de bergers belges, ...etc.

2.1.1.3 Sexe

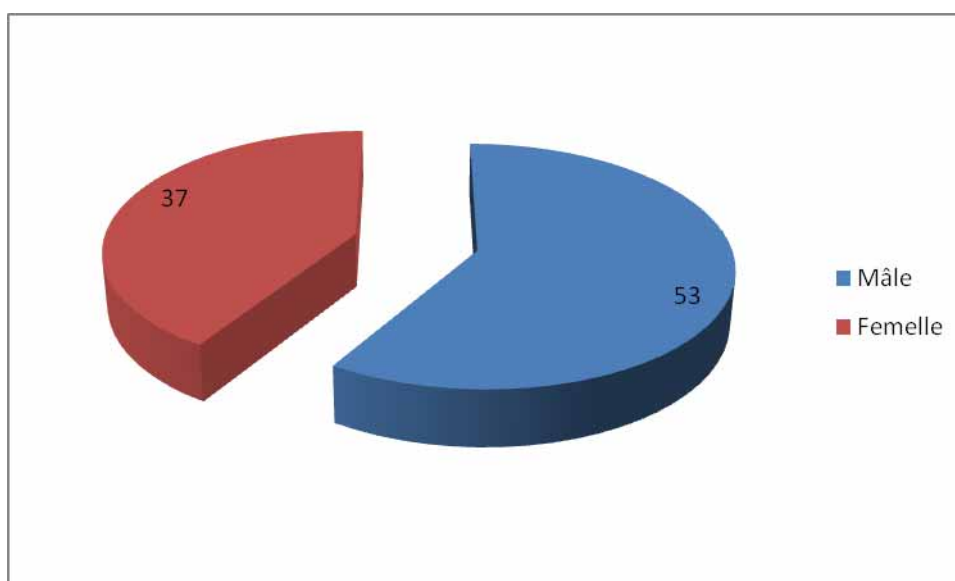


Figure 15 : Répartition des chiens de l'étude en fonction du sexe

Dans notre échantillon, on compte 53 mâles (59%) et les 37 femelles (41%).

2.1.1.4 Age

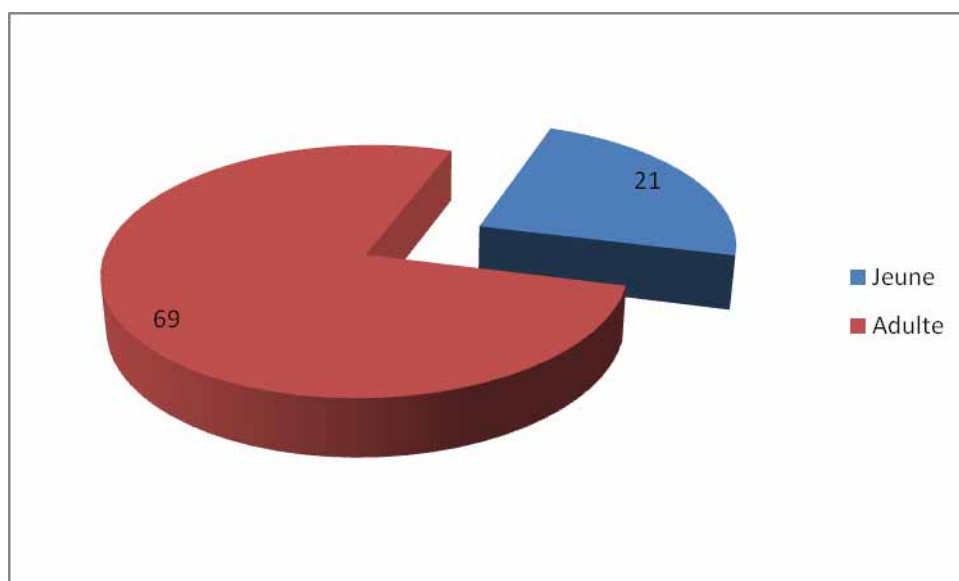


Figure 16: Répartition des chiens de l'étude en fonction de l'âge

On dénombre 21 jeunes (< 8 mois) et 69 adultes (> 8 mois) soit respectivement 23% et 77%.

2.1.1.5 Alimentation

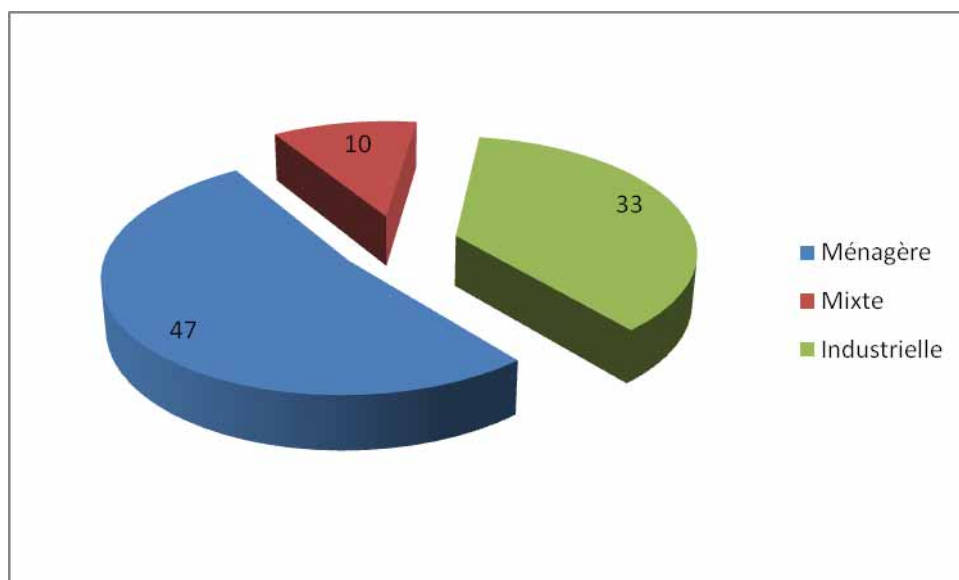


Figure 17: Répartition des chiens de l'étude en fonction de l'alimentation

47 chiens ont une alimentation ménagère (52%), 10 autres ont une alimentation mixte (11%) et les 33 restants ont une alimentation industrielle (37%).

2.1.2 Paramètres hématologiques

2.1.2.1 Distribution

Les figures (18 à 27) montrent les fréquences de distribution des fourchettes de valeurs observées pour les différents paramètres hématologiques. On a en abscisse les fourchettes de valeurs observées et en ordonnée les fréquences de distribution.

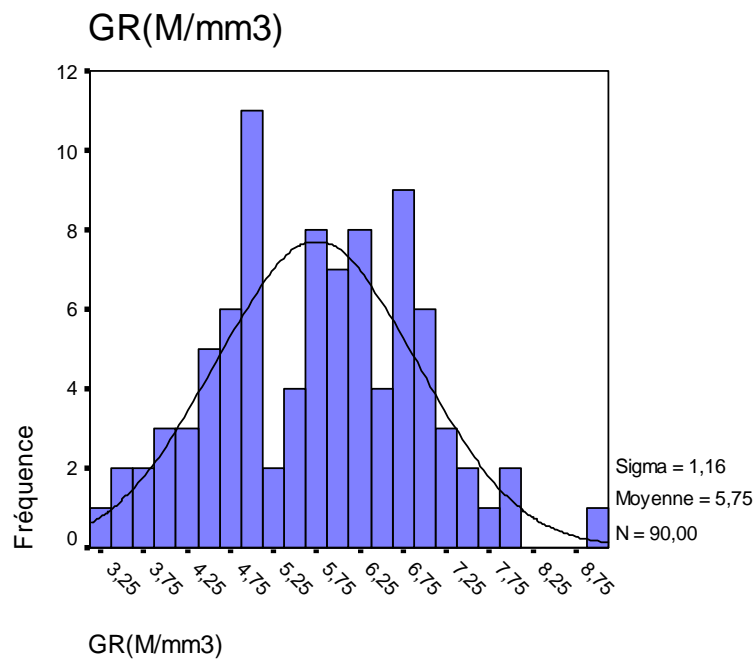


Figure 18: Courbe de résultat de la numération érythrocytaire

Les résultats de la numération érythrocytaire sont plutôt bien centrés autour d'une moyenne de $5,75 \cdot 10^{12}/L$ avec un écart type de 1,16.

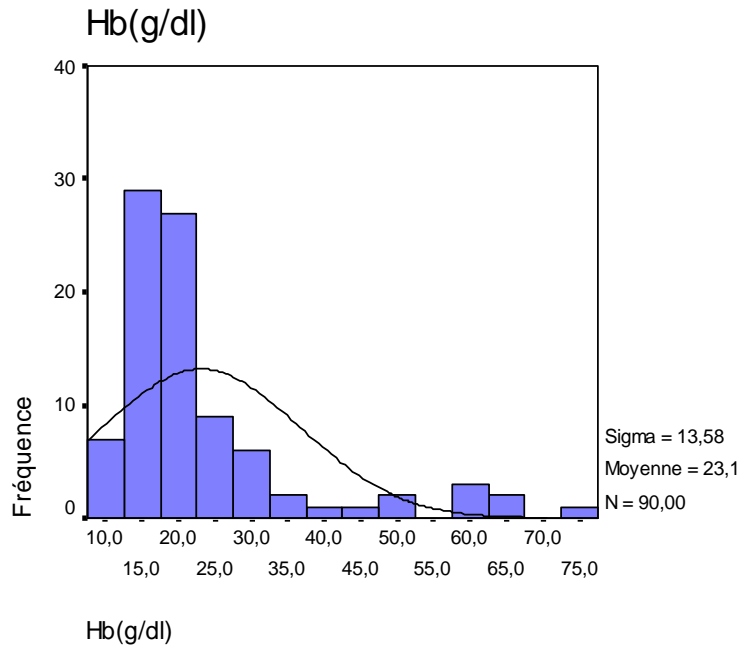


Figure 19: Courbe de résultat du taux d'hémoglobine

Les résultats du taux d'hémoglobine sont légèrement déviés à gauche de la moyenne de 23,1 g/dl. L'écart type est de 13,58.

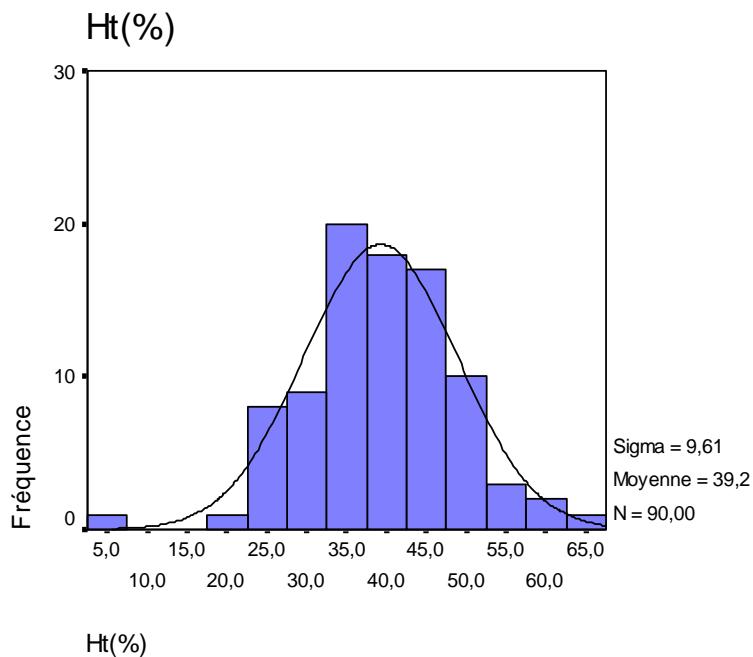


Figure 20: Courbe de résultat de l'hématocrite

Les résultats de l'hématocrite sont très bien centrés autour de la moyenne de 39,2% avec un écart type de 9,61.

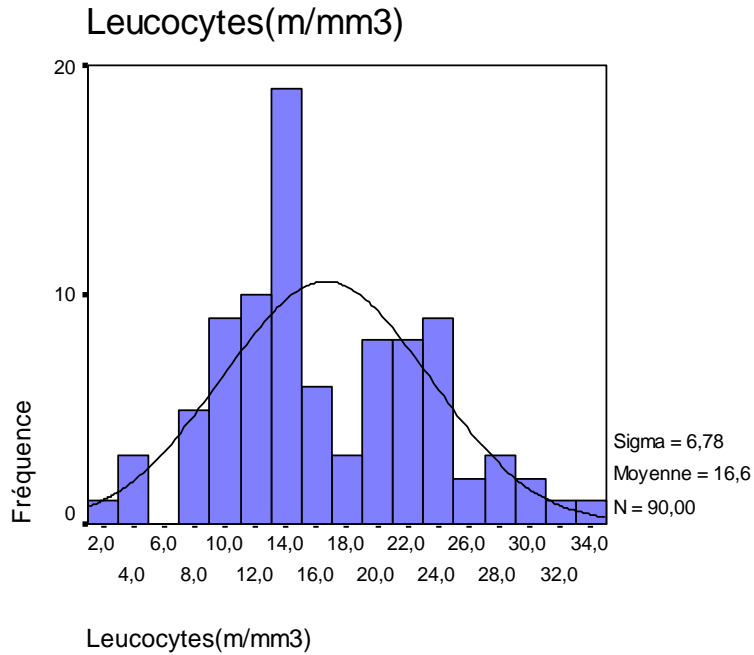


Figure 21: Courbe de résultat de la numération leucocytaire totale

Les résultats de la numération leucocytaire totale sont plutôt bien centrés autour d'une moyenne de $16,6 \cdot 10^9/L$ avec un écart type de 6,78.

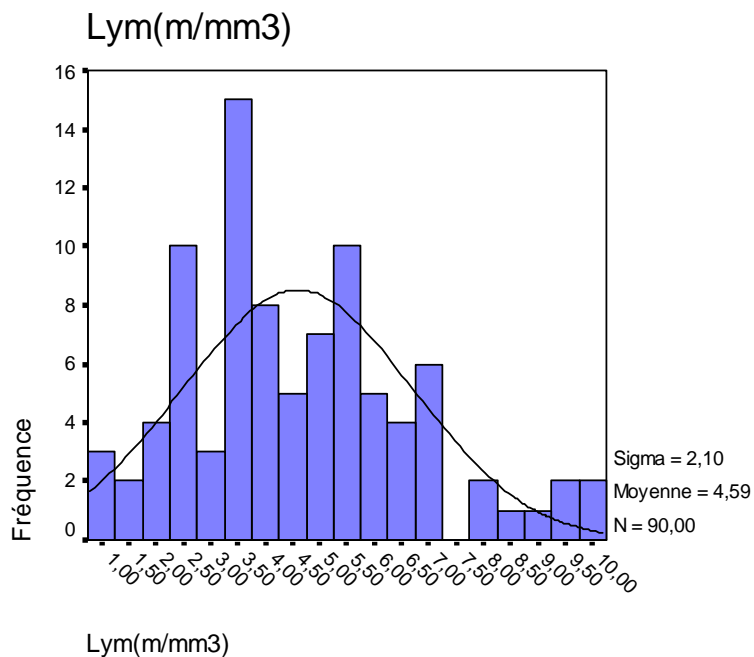


Figure 22: Courbe de résultat de la numération lymphocytaire

Les résultats de la numération lymphocytaire sont un peu dispersés par rapport à la moyenne de $4,59 \cdot 10^9/L$ avec un écart type de 2,1.

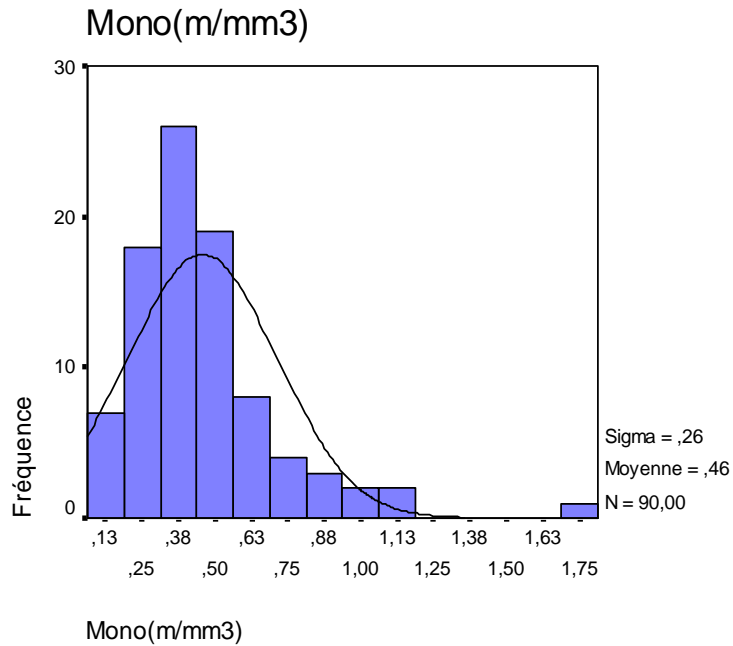


Figure 23: Courbe de résultat de la numération monocytaire

On a une légère déviation des résultats de la numération monocytaire à gauche d'une moyenne de $0,46 \cdot 10^9/L$. L'écart type est de 0,26.

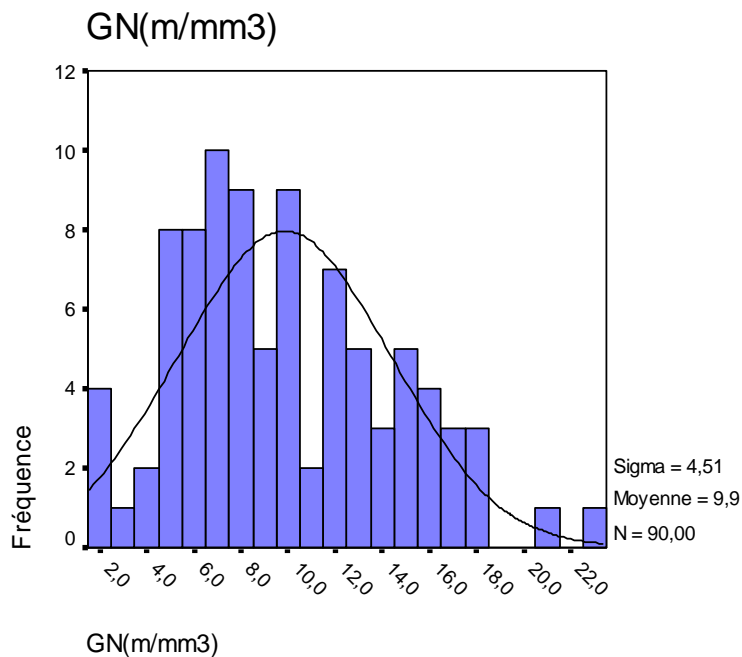


Figure 24: Courbe de résultat de la numération des neutrophiles

Les résultats de la numération des neutrophiles sont un peu dispersés et légèrement déviés à gauche d'une moyenne de $9,9 \cdot 10^9/L$ avec un écart type de 4,51

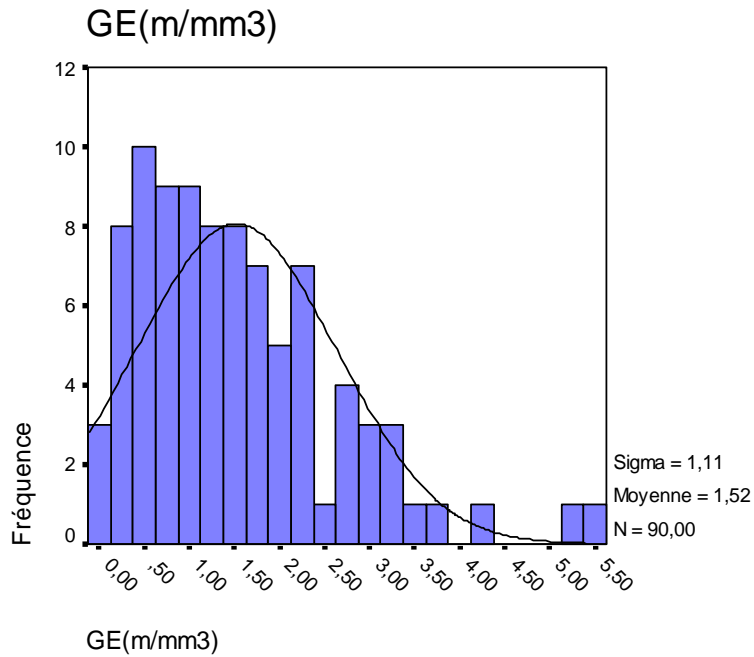


Figure 25: Courbe de résultat de la numération des éosinophiles

Les résultats de la numération des éosinophiles sont dispersés et légèrement déviés à gauche d'une moyenne de $1,52 \cdot 10^9/L$ avec un écart type de 1,11.

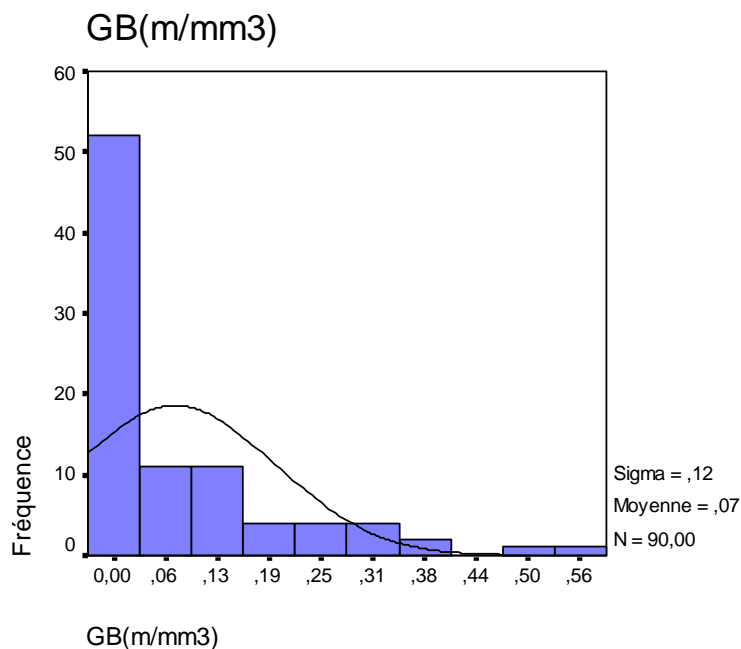


Figure 26: Courbe de résultat de la numération des basophiles

On a une forte déviation des résultats de la numération des basophiles à gauche d'une moyenne de $0,07 \cdot 10^9/L$. L'écart type est de 0,12.

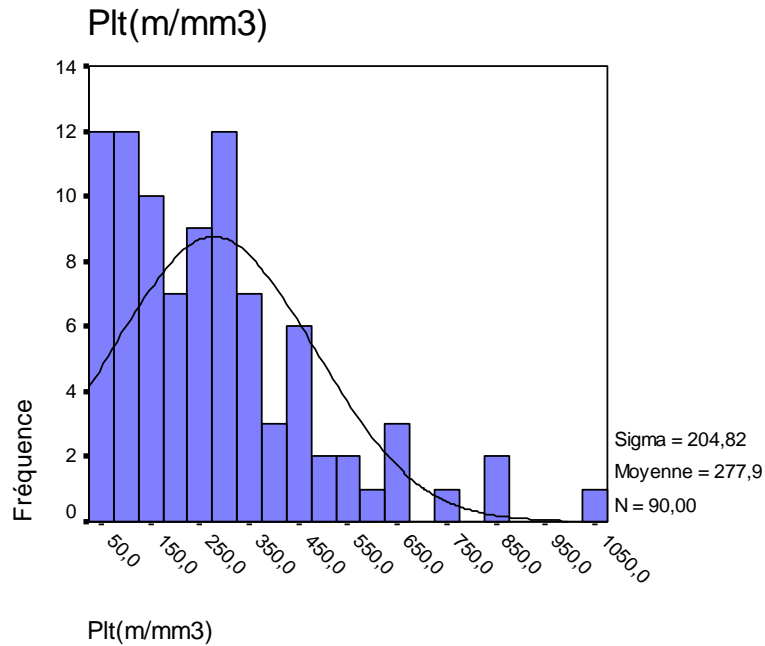


Figure 27: Courbe de résultat de la numération plaquettaire

Les résultats de la numération plaquettaire sont dispersés et légèrement déviés à gauche d'une moyenne de $277,9 \cdot 10^9/L$ avec un écart type de 204,82.

2.1.2.2 Analyse statistique

« En biologie, les grandeurs mesurables étudiées sont généralement réparties dans une population selon des lois proche de la loi normale. Dans ces conditions, la moyenne de n valeurs suit très correctement une loi normale même quand n n'est pas très grand » comme l'explique SCHWARTZ [35].

En considérant la répartition des numérations des différents paramètres comme normale, on peut calculer la variance puis l'écart-type de la moyenne de chaque numération leucocytaire selon la formule :

$$\sigma^2 = (\sum (x - \mu)^2) / N$$

Avec σ^2 = variance de la moyenne et donc σ = écart-type de la moyenne

x = valeur mesurée pour une lignée leucocytaire chez un individu

μ = moyenne des valeurs mesurées dans l'ensemble de la population

N = nombre d'individus de la population

Le calcul de l'écart-type de la moyenne nous permet de calculer une fourchette contenant la majorité des valeurs pour chaque paramètre (Tableau III).

Tableau III : Fourchettes de valeurs moyennes des différents paramètres hématologiques.

	Moyenne	Ecart-type	Valeurs usuelles	Pourcentage (%)
GR (M/mm ³)	5,74	1,16	4,58 - 6,9	
Hb (g/dl)	23,08	13,58	9,5 - 33,6	
Ht (%)	39,24	9,61	29,6 – 48,8	
Réticulocytes (m/mm ³)	0	-	0	0
Leucocytes (m/mm ³)	16,6	6,77	9,8 – 23,4	
Lym (m/mm ³)	4,59	2,1	2,5 – 6,7	19,8 – 36,9
Mono (m/mm ³)	0,45	0,25	0,2 – 0,7	1,8 – 3,7
GN (m/mm ³)	9,85	4,5	5,45 – 14,35	50,4 – 66,8
GE (m/mm ³)	1,52	1,1	0,42 – 2,62	3,7 – 14,7
GB (m/mm ³)	0,07	0,12	0 – 0,2	0 – 1,1
Plt (m/mm ³)	277,9	204,82	73 – 482,8	

Tableau IV : Comparaison de nos résultats aux valeurs données dans la littérature

	Résultats Etude		Schalm's Veterinary Hematology	
	Valeurs usuelles	Pourcentage (%)	Valeurs usuelles	Pourcentage (%)
GR (M/mm ³)	4,58 - 6,9	-	5,6-8,5	-
Hb (g/dl)	9,5 - 33,6	-	13,2-19,3	-
Ht (%)	29,6 – 48,8	-	38-57	-
Réticulocytes (m/mm ³)	0	0	20-80	0,3-0,9
Leucocytes (m/mm ³)	9,8 – 23,4	-	6-17	-
Lym (m/mm ³)	2,5 – 6,7	19,8 – 36,9	1-4,8	12-30
Mono (m/mm ³)	0,2 – 0,7	1,8 – 3,7	0,1-1,3	3-10
GN (m/mm ³)	5,45 – 14,35	50,4 – 66,8	3-11,8	60-80
GE (m/mm ³)	0,42 – 2,62	3,7 – 14,7	0,1-1,3	2-10
GB (m/mm ³)	0 – 0,2	0 – 1,1	Rares	Rares
Plt (m/mm ³)	73 – 482,8	-	145-440	-

Le tableau IV affronte les valeurs usuelles issues de nos travaux à celles données par l'ouvrage de référence en hématologie : le Schalm's Veterinary Hematology.

2.1.3 Facteurs de variation

2.1.3.1 Paramètres érythrocytaires

Les figures 28, 29, 30 et 31 présentent la comparaison des paramètres érythrocytaires étudiés, respectivement, en fonction de la race, du sexe, de l'âge et du type d'alimentation.

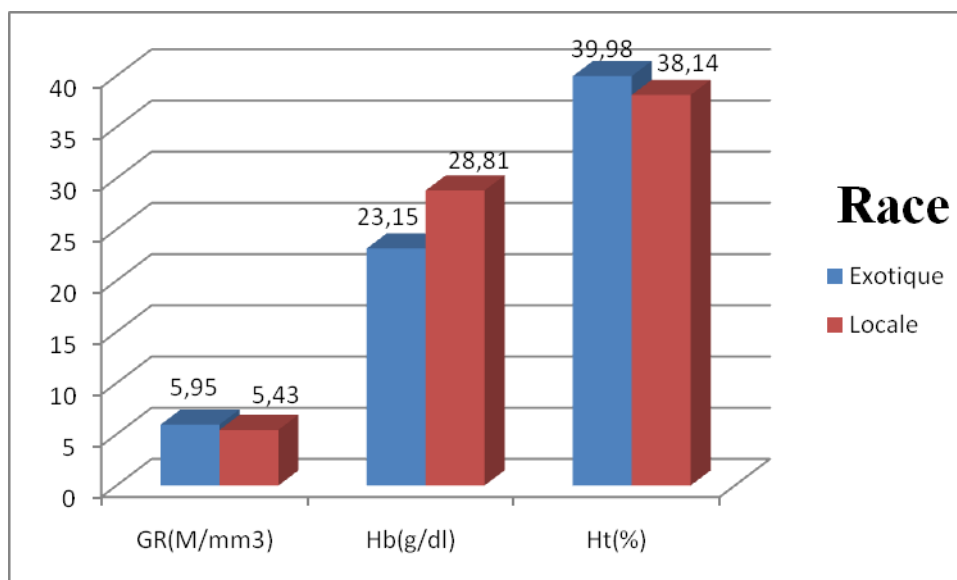


Figure 28: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction de la race

La figure 28 montre que les races exotiques ont une numération globulaire et un hémocrite supérieur par rapport à la race locale et inversement pour le taux d'hémoglobine.

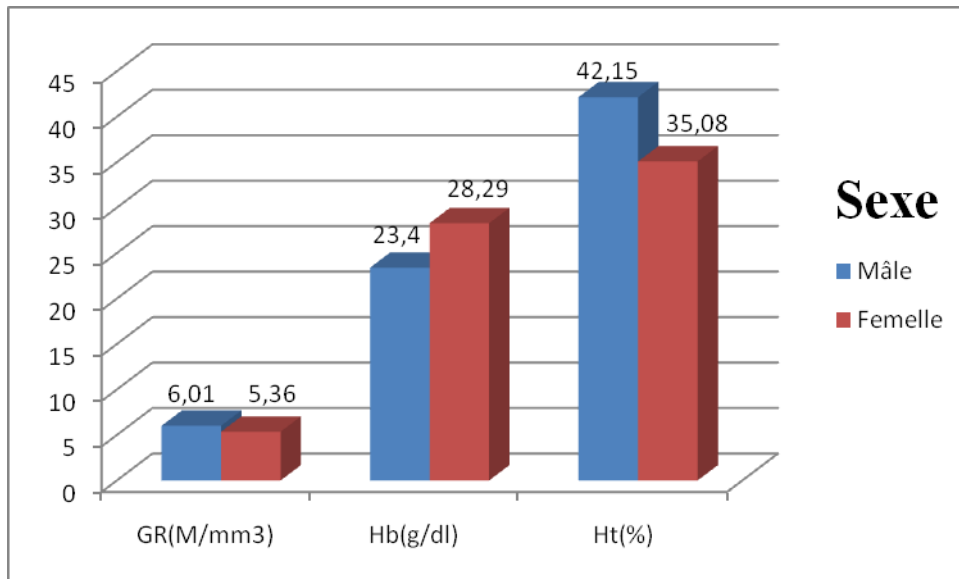


Figure 29: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction du sexe

La figure 29 montre une numération globulaire et un hématoците plus élevé chez les mâles et inversement pour le taux d'hémoglobine.

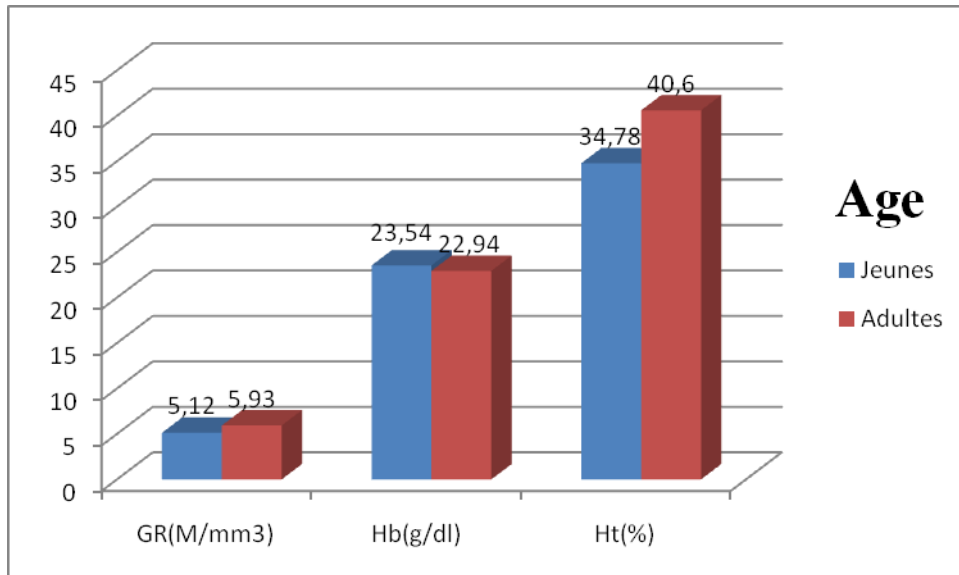


Figure 30: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction de l'âge

La figure 30 montre que les adultes ont une numération globulaire et un hématoците supérieur par rapport aux jeunes et inversement pour le taux d'hémoglobine.

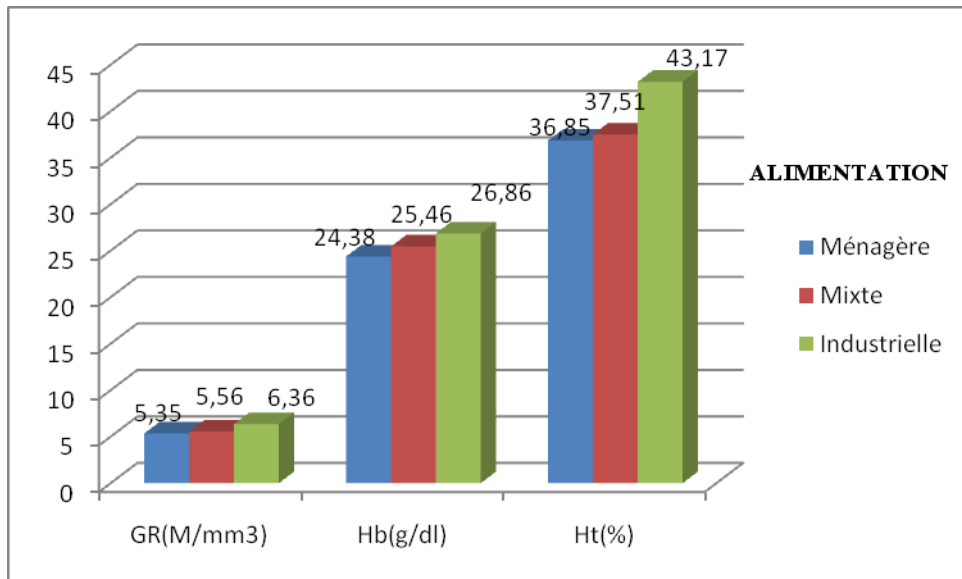


Figure 31: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction de l'alimentation

Au vu de la figure 31, on constate que les paramètres érythrocytaires sont influencés par l'alimentation. Ces paramètres évoluent de manière croissante en passant d'une alimentation ménagère à une alimentation de type industriel.

2.1.3.2 Paramètres leucocytaires

Les figures 32, 33, 34 et 35 présentent l'évolution de la numération leucocytaire totale ainsi que celles des différents types leucocytaires, respectivement, en fonction de la race, du sexe, de l'âge et du type d'alimentation.

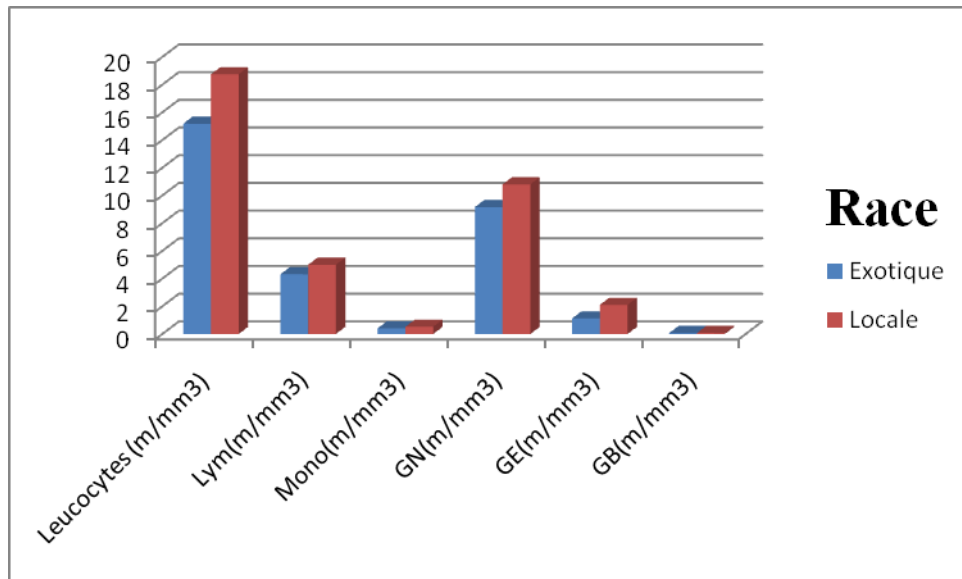


Figure 32: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction de la race

La figure 32 montre que la numération leucocytaire totale ainsi que celle de chaque type leucocytaire est plus élevée chez la race locale que chez les chiens de race exotique.

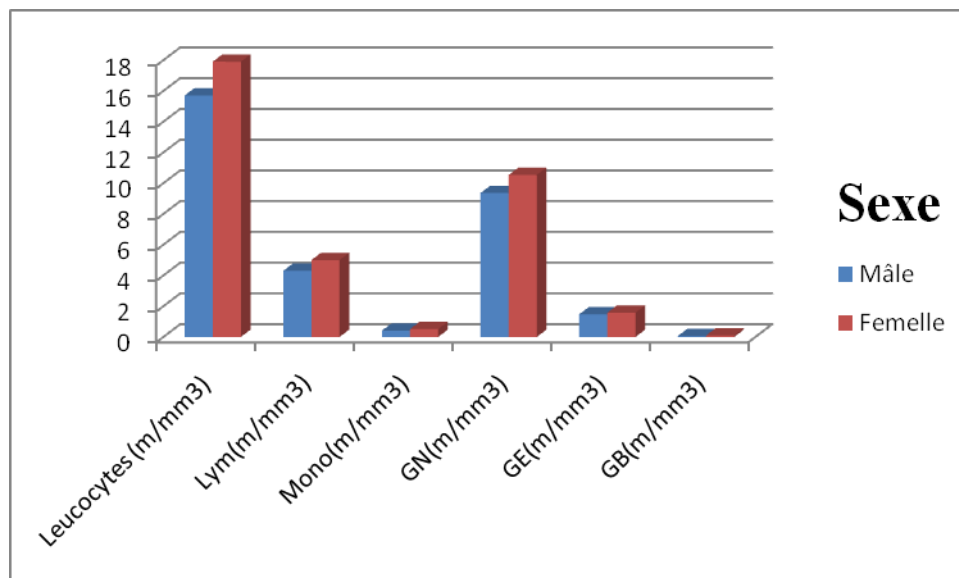


Figure 33: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction du sexe

La figure 33 montre que les femelles ont des numérations leucocytaires supérieures à celles des mâles.

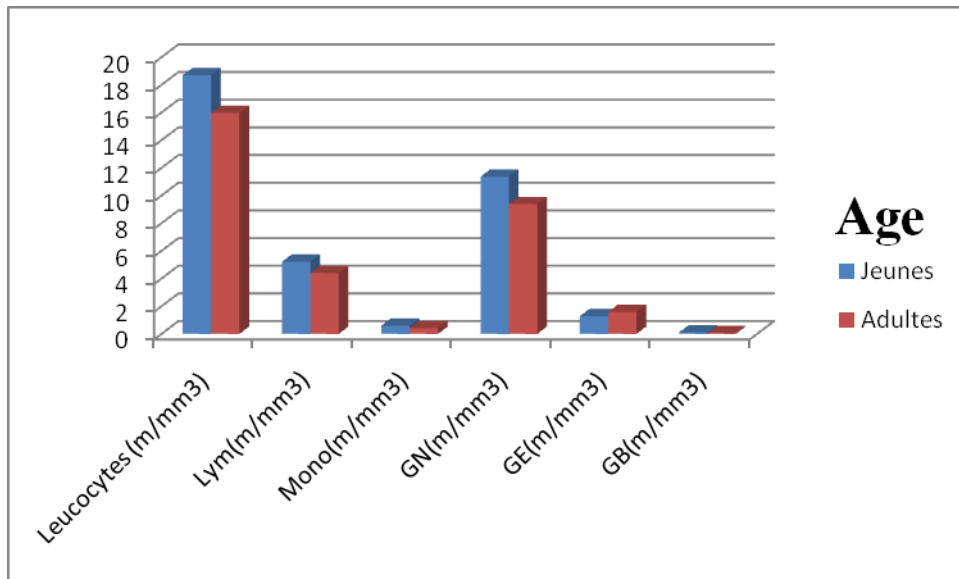


Figure 34: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction de l'âge

La figure 34 montre que les jeunes ont des numérations leucocytaires supérieures à celles des adultes excepté la numération des granulocytes éosinophiles.

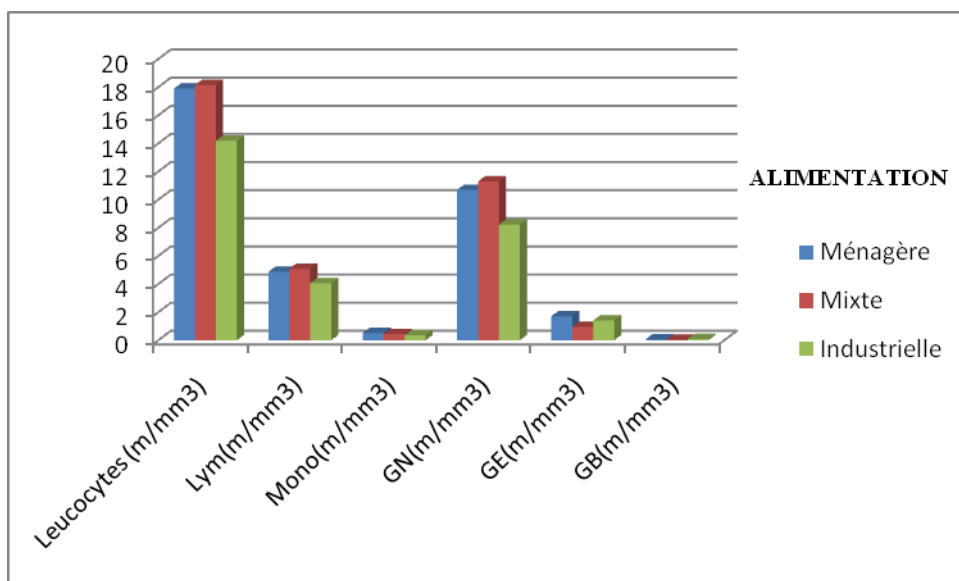


Figure 35: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction de l'alimentation

En fonction de l'alimentation, l'évolution des paramètres leucocytaires est variable. Les numérations leucocytaires augmentent en passant d'une

alimentation ménagère à mixte. En revanche, elles diminuent considérablement avec à un régime de type industriel.

2.1.3.3 Paramètres plaquettaires

Les figures 36, 37, 38 et 39 présentent l'évolution de la numération plaquettaire en fonction de la race, du sexe, de l'âge et du type d'alimentation.

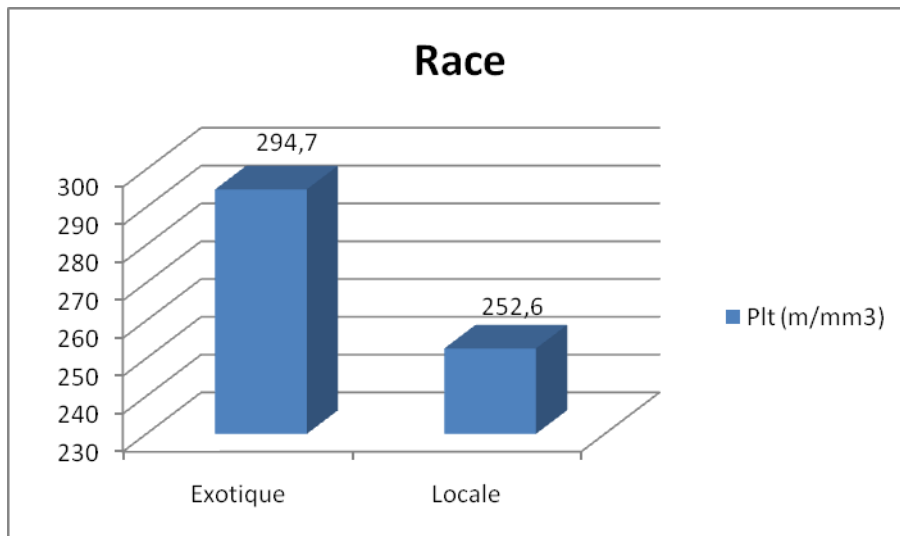


Figure 36: Evolution de la numération plaquettaire en fonction de la race

A travers la figure 36, on note une numération plaquettaire plus élevée chez les chiens de race exotique.

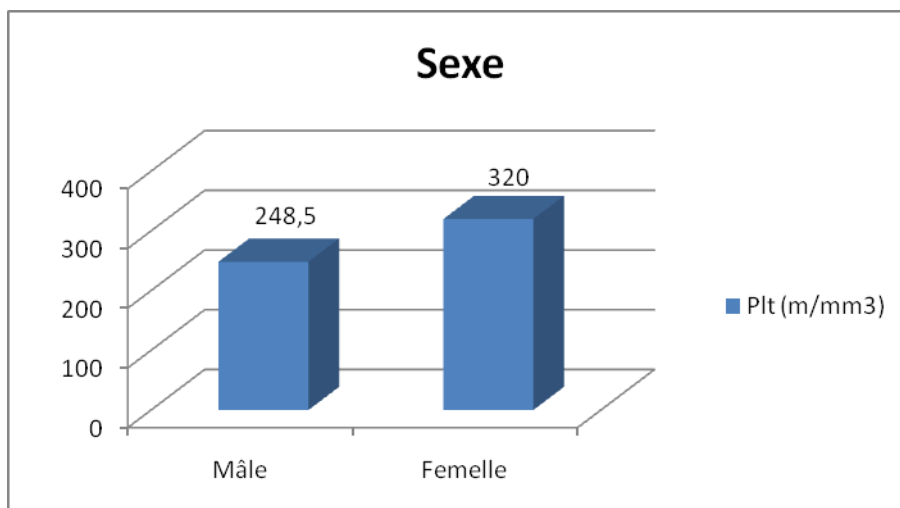


Figure 37: Evolution de la numération plaquettaire en fonction du sexe

La figure 37 montre une numération plaquettaire supérieure chez les femelles

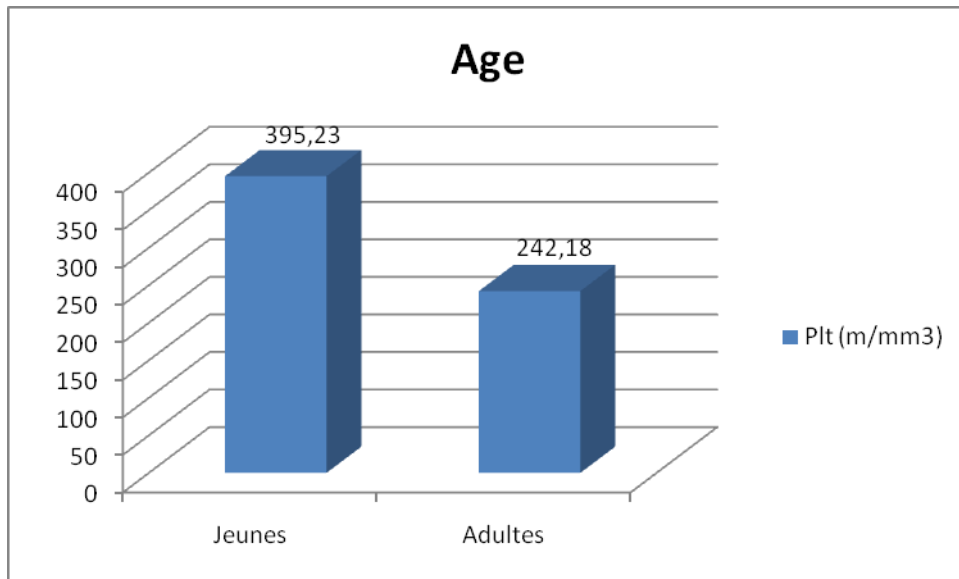


Figure 38: Evolution de la numération plaquettaire en fonction de l'âge

La figure 38 montre une numération plaquettaire plus élevée chez les sujets jeunes que chez les adultes.

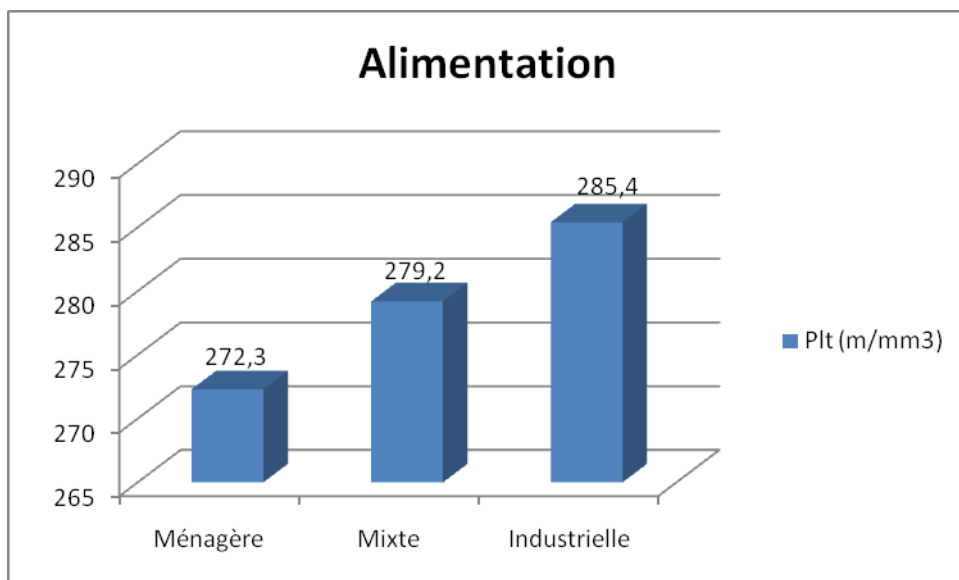


Figure 39: Evolution de la numération plaquettaire en fonction de l'alimentation

A travers la figure 39, on note une numération plaquettaire croissante en passant d'une alimentation mixte à une alimentation de type industriel

2.1.3.4 Analyse de régression

Le tableau V donne les probabilités critiques obtenues par l'analyse de régression des paramètres sanguins en fonction des différents facteurs de variation (Race, Sexe, Age et Alimentation).

Tableau V : Probabilités critiques des paramètres sanguins en fonction des facteurs de variation

	Race	Sexe	Age	Alimentation
GR	0,642	0,038	0,063	0,028
Hb	0,135	0,597	0,383	0,004
Ht	0,839	0,020	0,079	0,017
Leucocytes	0,014	0,155	0,370	0,536
Lym	0,295	0,147	0,280	0,823
Mono	0,344	0,164	0,017	0,402
GN	0,451	0,356	0,277	0,289
GE	0,000	0,170	0,055	0,242
GB	0,529	0,217	0,045	0,216
Plt	0,463	0,122	0,001	0,339

La race agit significativement sur la numération leucocytaire totale et sur celle des granulocytes éosinophiles.

Le sexe agit significativement sur la numération des globules rouges et sur l'hématocrite.

L'âge agit significativement sur la numération des monocytes, des basophiles et des plaquettes.

L'alimentation agit significativement sur la numération des globules rouges, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite.

2.1.4 Effet du statut résidentiel

Après avoir mis en évidence les effets des facteurs de variations (Race, Sexe, Age et Alimentation) sur les paramètres sanguins, nous nous sommes intéressés aux éventuels effets que pourrait avoir le lieu de résidence sur ces derniers. Les figures 40, 41 et 42 comparent les paramètres érythrocytaires, leucocytaires et plaquettaires des chiens de notre étude à un petit lot de chiens venant de France et résident au Sénégal depuis 3 mois.

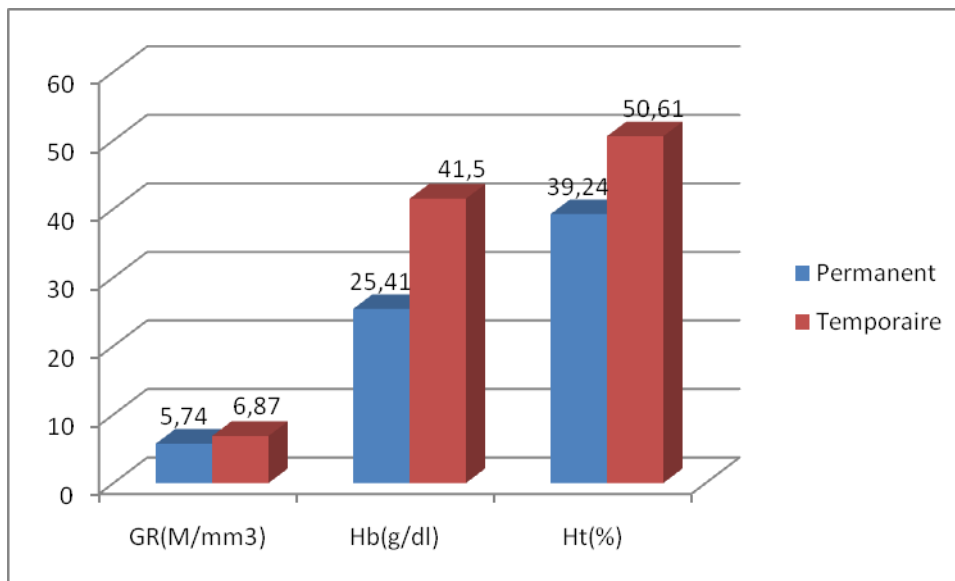


Figure 40 : Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction du statut résidentiel

La figure 40 montre des paramètres érythrocytaires plus élevés chez les résidents temporaires.

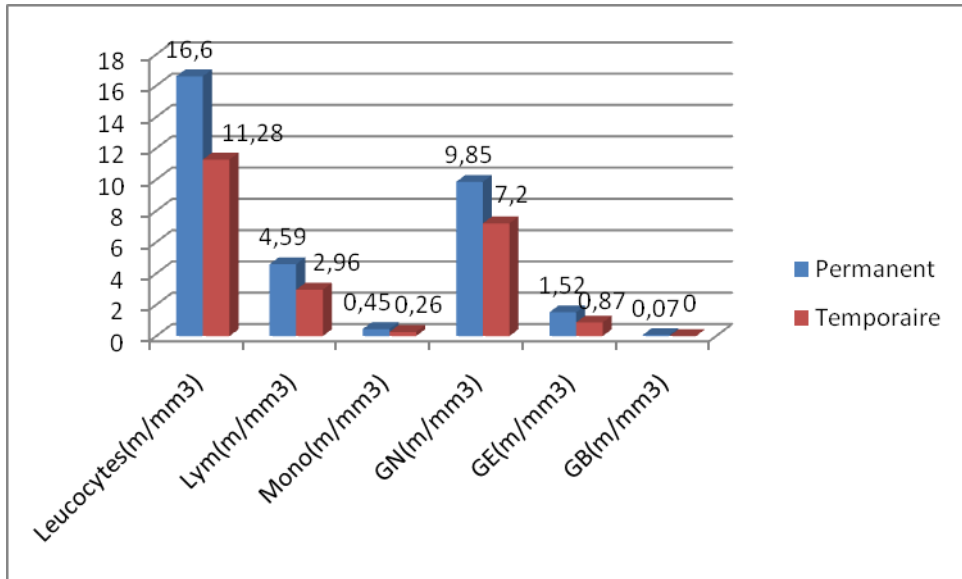


Figure 41: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction du statut résidentiel

A travers la figure 41, on observe des numérations leucocytaires supérieures chez les résidents permanents.

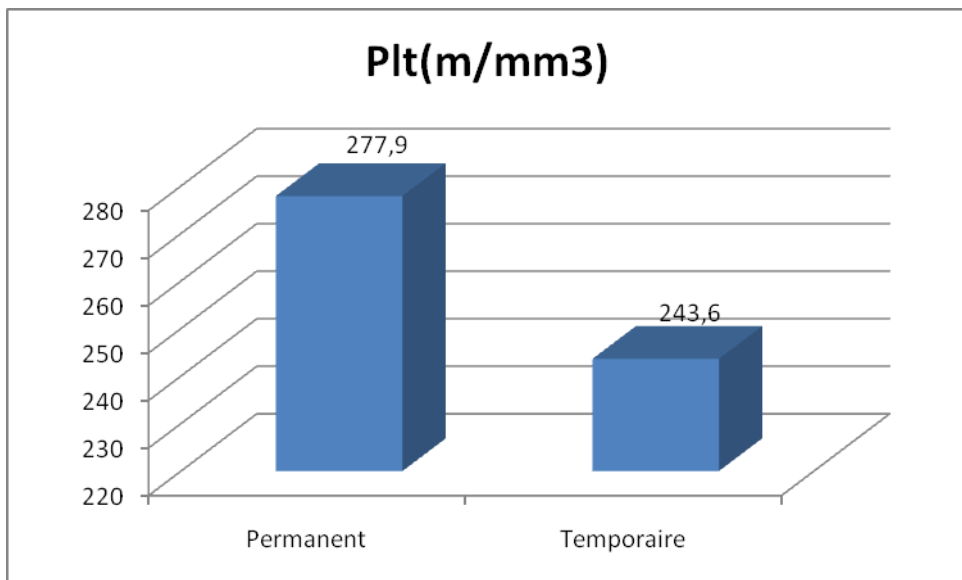


Figure 42: Evolution des paramètres plaquettaires en fonction du statut résidentiel

La figure 42 montre une numération plaquettaire plus importante chez les résidents permanents.

Afin d'affiner notre analyse, nous avons comparé les chiens résident temporaires aux chiens de notre étude ayant les mêmes caractéristiques que ces derniers. On a ainsi sélectionné les chiens mâles, adultes, de race exotique et ayant une alimentation de type industriel. Les résultats sont présentés à travers les figures 43, 44 et 45.

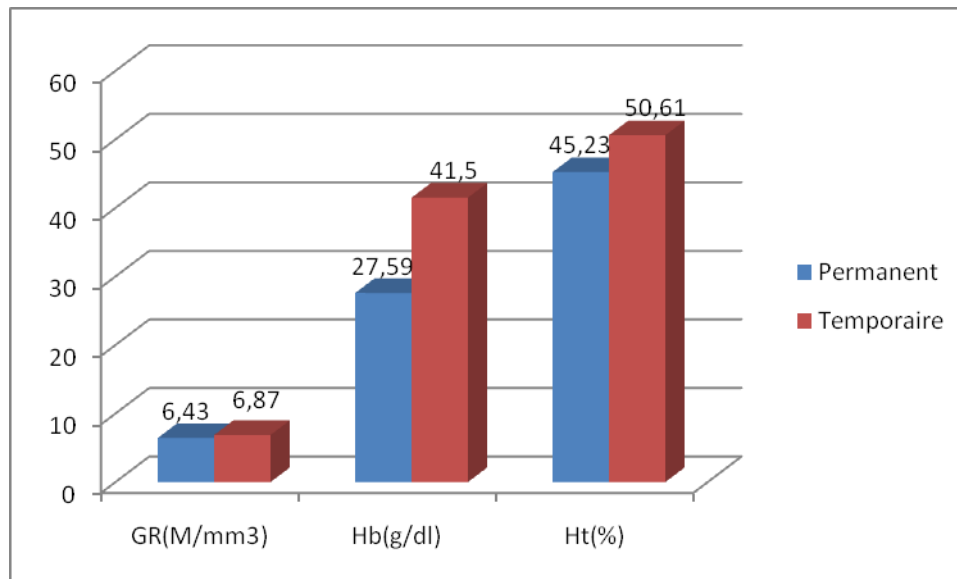


Figure 43: Evolution des paramètres érythrocytaires en fonction du statut résidentiel (2)

La figure 43 montre des paramètres érythrocytaires plus élevés chez les résidents temporaires.

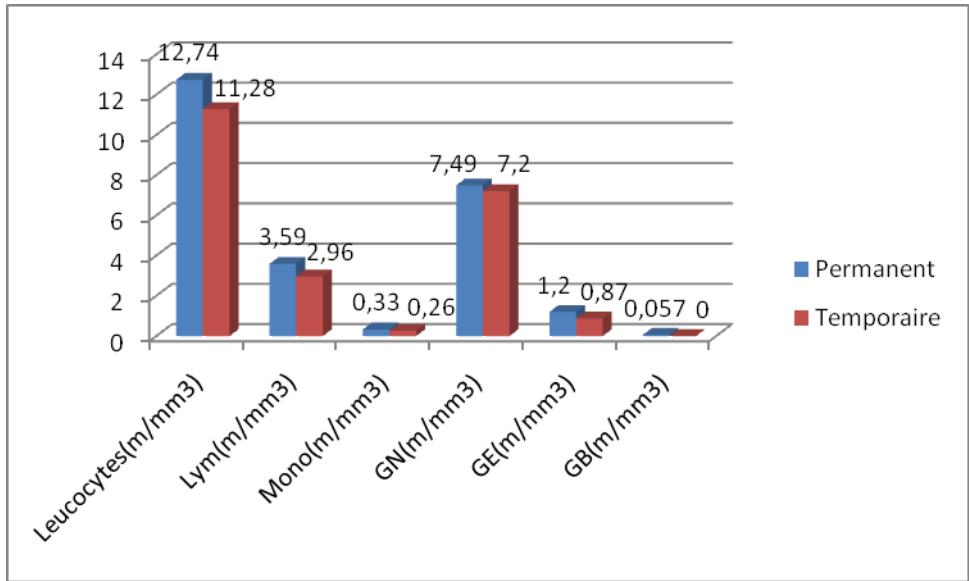


Figure 44: Evolution des paramètres leucocytaires en fonction du statut résidentiel (2)

A travers la figure 44, on observe des numérations leucocytaires supérieures chez les résidents permanents

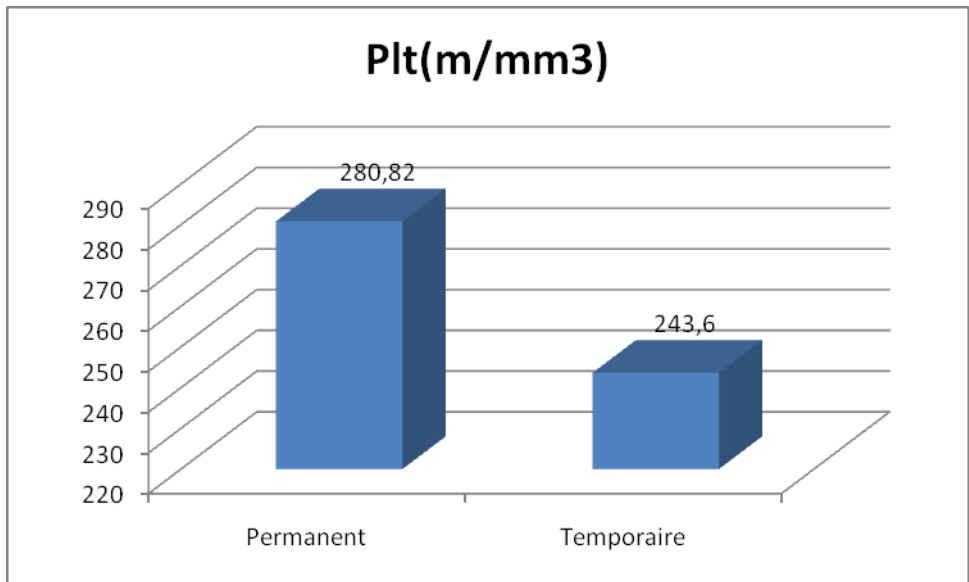


Figure 45: Evolution des paramètres plaquettaires en fonction du statut résidentiel (2)

La figure 45 montre une numération plaquettaire plus importante chez les résidents permanents.

Le tableau VI donne les probabilités critiques obtenues par l'analyse de régression des paramètres sanguins en fonction du statut résidentiel

Tableau VI : Probabilités critiques des paramètres sanguins en fonction des facteurs de variation

	Statut résidentiel
GR	0,345
Hb	0,075
Ht	0,141
Leucocytes	0,502
Lym	0,387
Mono	0,258
GN	0,851
GE	0,354
GB	0,136
Plt	0,652

Toutes les probabilités critiques sont supérieures à 0,05. Le statut résidentiel n'agit donc pas sur les paramètres sanguins.

2.2 Discussion

2.2.1 Sur le cadre d'étude

L'intérêt de notre étude repose surtout sur l'originalité du site d'étude. Plusieurs ouvrages, articles et thèses ont porté sur l'hématologie des carnivores. Mais tous ces travaux ont, dans la plupart des cas, été réalisés dans les pays d'Europe et d'Amérique. En Afrique de l'ouest et en particulier au Sénégal, les valeurs de référence utilisées sont issues de recherches réalisées dans des conditions géographiques et climatiques différentes. Ce qui pourrait nuire à l'interprétation des résultats d'hématologie si jamais le milieu de vie entraînait des variations sur les paramètres hématologiques.

Le choix de ce cadre d'étude réside aussi dans l'importance de la population canine, la diversité des races retrouvées, mais surtout dans la création d'un laboratoire d'hématologie animale et la complicité des cliniques vétérinaires.

En effet, les analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire d'hématologie vétérinaire de l'E .I.S.M.V. Ce dernier est le premier laboratoire spécialisé en hématologie animale à Dakar. Auparavant, les praticiens vétérinaires envoyaient leurs prélèvements dans des laboratoires d'hématologie humaine. Ils étaient souvent ainsi confrontés à des difficultés d'interprétation. Dans ces cas, la numération automatisée est peu fiable puisque les appareils sont calibrés pour l'espèce humaine, et la méthode manuelle dépend de l'expérience du laborantin vis-à-vis de l'espèce animale. En effet, la morphologie des cellules sanguines chez l'espèce canine présente quelques particularités et les fluctuations physiologiques et pathologiques du leucogramme des carnivores ne s'interprète pas toujours de la même manière que les leucogrammes humains. D'où l'importance de la proximité d'un laboratoire d'hématologie vétérinaire. De plus, cette étude permettra à ce laboratoire d'avoir une base de données de référence adaptée au contexte de la région de Dakar.

2.2.2 Sur la méthode d'étude

L'étude a consisté d'une part à faire, sur le terrain, des prélèvements puis à collecter des données et d'autre part à réaliser des analyses sur le sang prélevé.

Notre échantillon de base s'élève à un effectif de 90 sujets. Pour une précision acceptable, au moins 120 individus doivent être étudiés pour établir des intervalles de référence ; le nombre minimum étant de 40 [39]. Vu l'effectif total de la population canine à Dakar, notre échantillon est donc plutôt représentatif. De plus, les races, le sexe, les catégories d'âge et les types d'alimentation sont tous bien représentés dans l'échantillon.

Par ailleurs, les prises de sang ont concernés des chiens vivant dans plusieurs localités de la région de Dakar. Ce qui donne ainsi plus de fiabilité sur la qualité de notre échantillonnage

Les prélèvements ont tous été réalisés de la même manière. Certains refus ont cependant été observés chez quelques sujets. Ce stress pourrait ainsi être à l'origine, d'une part d'une éventuelle leucocytose (lymphocytose concomitante à une neutrophilie) sous l'effet d'une sécrétion d'adrénaline et d'autre part d'une splénocontraction avec comme résultat une augmentation de l'hématocrite et de la numération globulaire.

Les frottis sanguins ont été réalisés et lu par un même opérateur. De même, la lecture des lames a été réalisée selon le même trajet en créneau. Il est donc possible qu'il ait eu des erreurs analytiques dues à l'effet observateur ou à l'effet frottis.

2.2.3 Sur les résultats

2.2.3.1 Valeurs de référence

Les résultats de nos analyses ont été comparés avec les valeurs données par l'ouvrage de référence en hématologie : Le Schalm's Veterinary Hematology (Tableau V).

Les valeurs usuelles des paramètres érythrocytaires issues de notre étude ont des valeurs extrêmes (inférieure et supérieure) en deçà de celles données par l'ouvrage de référence. Le taux d'hémoglobine présente toutefois une valeur extrême supérieure (33,6 g/dl) au-delà de celle donnée dans la littérature (19,3 g/dl).

Les valeurs usuelles de la numération formule leucocytaire ont par contre des valeurs extrêmes plus élevées que celles données par le Schalm's Veterinary Hematology.

La numération plaquettaire présente des valeurs plus étendues et incluant celles de la littérature.

Ces résultats permettent d'avancer que les paramètres sanguins des chiens domestiques de la région de Dakar ont des normes différentes des valeurs de référence issues des travaux de Jain [18]. Ceci nous permet d'avancer plusieurs hypothèses.

- Le milieu de vie, le cadre climatique et géographique aurait un effet considérable sur les paramètres sanguins ;
- Les races utilisées durant cette étude auraient une influence particulière sur ces paramètres ;
- La saison durant laquelle ont été réalisés les prélèvements pourrait modifier certains de ces paramètres.

Dans la littérature récente, très peu d'études existent concernant les variations des paramètres hématologiques en rapport avec le cadre géo-climatique. Donc vu les écarts considérables entre nos résultats et les données de la bibliographie,

on peut dire que les paramètres hématologiques pourraient différer d'une région à une autre.

D'après Navaron [30], les chiens utilisés dans la plupart des études notamment celles établissant des valeurs usuelles sont bien souvent des Beagles. Les Labradors et les Golden Retrievers possèdent des proportions de neutrophiles inférieurs et de lymphocytes supérieurs aux chiens d'autres races. La race locale Laobé fortement représentée aurait donc une grande implication dans la variation de nos résultats.

Selon JONGH [19], une variation saisonnière des leucocytes d'environ $2,5 \cdot 10^9/L$ de sang a été relevée, chez des Beagles, entre le début de l'été (où la valeur est la plus élevée) et l'automne et l'hiver. Nos prises de sang ont été réalisées durant les mois de Mai et de Juin. Ces données peuvent conforter nos résultats en ce qui concerne nos numérations leucocytaires supérieures à celles de la bibliographie.

2.2.3.2 Facteurs de variations

- **Paramètres érythrocytaires :** Notre étude montre que la race et l'âge n'ont pas d'effet sur les paramètres érythrocytaires. Par contre, le sexe et l'alimentation ont un effet considérable. Les mâles ont une numération érythrocytaire et un hématoците supérieurs aux femelles. De plus, on voit que les paramètres érythrocytaires sont de plus en plus élevés en passant d'une alimentation ménagère à une alimentation de type industriel. Ceci pourrait être dû à la forte présence, dans l'aliment de type industriel, des facteurs nutritionnels favorisant l'érythropoïèse (fer, vitamines B₁₂, ...etc.).

On constate un taux de réticulocytes de proche de 0%. Ce résultat témoigne, dans une certaine mesure, de l'état de non anémie des chiens de notre échantillon.

- **Paramètres leucocytaires :** Les résultats issus de ce travail montrent des variations de la numération leucocytaire en fonction de la race et de l'âge. La numération leucocytaire totale et celle des granulocytes éosinophiles sont

supérieures chez les chiens de race locale. La numération des monocytes et des granulocytes basophiles est plus élevée chez les jeunes. Le sexe et l'alimentation n'ont aucune influence.

Dans la littérature récente, il n'y a pas assez d'informations parlant de l'effet de l'alimentation sur les paramètres leucocytaires.

D'après Navaron [30], il semble ne pas exister de différence significative entre les individus mâles et femelles. Ce résultat corrobore le fait que la numération leucocytaire des chiens de notre étude soit indépendante du sexe.

On note des paramètres leucocytaires, en particulier la numération leucocytaire totale et celle des neutrophiles, plus élevés chez les chiens de race locale (Laobé). Navaron [30] affirme que les chiens utilisés dans la plupart des études notamment celles établissant des valeurs usuelles sont bien souvent des Beagles. Les Labradors et les Golden Retrievers possèdent des proportions de neutrophiles inférieurs et de lymphocytes supérieurs aux chiens d'autres races. Ceci conforte donc les résultats obtenus.

On a aussi noté des paramètres leucocytaires, en particulier la numération monocyttaire et celle des basophiles, plus élevés chez les jeunes. Selon Groulade [14], le nombre de globules blancs est plus élevé à la naissance et diminue progressivement jusqu'à la valeur habituellement observée chez l'adulte vers l'âge de six ou sept mois (c'est-à-dire l'âge de la puberté). D'après les pourcentages de la formule leucocytaire, on peut remarquer que c'est plus particulièrement la population lymphocytaire qui est plus importante chez les jeunes que chez l'adulte. Cette inadéquation avec nos résultats pourrait résulter de la taille de notre échantillon.

- **Paramètres plaquettaires :** Seule l'âge agit de façon significative sur la numération plaquettaire. Dans la littérature récente, très peu d'études existent concernant les variations des paramètres plaquettaires en rapport avec l'âge.

2.2.3.3 Effet du lieu de résidence

Notre première analyse, comparant les paramètres sanguins de la population canine permanente à celle de chiens vivant temporairement à Dakar, a montré quelques différences significatives. Dans un deuxième temps, on a essayé de d'affiner cette analyse et on a noté aucune différence significative. Le milieu de vie aurait donc un effet considérable sur les paramètres sanguins. Mais cette affirmation ne peut être confirmée qu'en faisant une étude sur les mêmes sujets à des endroits différents.

2.3 Recommandations

Au vu de la bibliographie sur les paramètres hématologiques et en s'appuyant sur les résultats de notre étude, nous recommandons :

- Au laboratoire d'hématologie vétérinaire de l'E.I.S.M.V. de Dakar d'intégrer les résultats issus de notre étude dans leur base de données de référence afin d'avoir des valeurs usuelles mieux adaptées à notre contexte ;
- Aux propriétaires de chiens, à défaut de nourrir leurs chiens intégralement aux pâtés ou aux croquettes, d'en incorporer dans leur alimentation afin de se prémunir d'éventuels syndromes anémiques ;
- Aux vétérinaires praticiens de faire recours à des laboratoires d'hématologie vétérinaire afin d'avoir des analyses spécifiques à l'espèce animale concernée et des résultats beaucoup plus fiables ;
- Aux chercheurs :
 - D'approfondir les études sur les paramètres hématologiques à Dakar mais aussi dans tous les pays de la sous-région;
 - De faire la même étude pour d'autres types d'analyses biologiques (Biochimie, ...etc.) afin d'avoir des données adaptées à notre contexte.

CONCLUSION GENERALE

La région de Dakar compte une importante population canine. Estimé à 150000 individus en 1993 [45], cet effectif évolue aujourd'hui de manière grandissante. Et à la race locale (Laobé) fortement représentée, s'ajoute une population de chiens de race exotique diverse.

Outre ce nombre considérable, le chien revêt aujourd'hui de plus en plus d'importance aux yeux de la société. En plus de son grand rôle de compagnonnage, le chien se distingue entre autres dans les activités de gardiennage, de pistage, de course, etc.

Mais comme tout être vivant, le chien est sujet à différentes pathologies. Et vu son rang dans la société, son état de santé est devenu une préoccupation de tout propriétaire. Ce qui explique d'ailleurs l'augmentation des vétérinaires installés en clientèle canine ainsi que leur nombre de consultations.

Seulement, le diagnostic clinique seul s'avère souvent insuffisant. Ainsi, le recours aux examens de laboratoire est devenu une pratique de plus en plus courante en médecine canine et en particulier le diagnostic hématologique.

Les analyses hématologiques étaient initialement réalisées dans des laboratoires d'hématologie humaine. Ceci confrontait les praticiens à des difficultés d'interprétation en raison des différences qui existent entre les populations sanguines humaine et animale. De nos jours, cette pratique tend à disparaître vu le développement de l'hématologie vétérinaire avec l'avènement des automates d'hématologie calibrés pour différentes espèces animales.

Mais, cet outil n'est efficace que si les résultats des paramètres choisis pour explorer une fonction donnée peuvent être comparés à des valeurs de référence et interprétés. Or de nos jours, à notre connaissance, aucune étude n'a encore été réalisée dans le domaine de l'hématologie canine au Sénégal en particulier à Dakar. Et jusque là, les valeurs de référence utilisées sont issues de travaux réalisés dans d'autres pays, de surcroît sur des chiens de races différentes.

L'objectif général de ce travail était d'élaborer un profil hématologique des chiens domestiques dans la région de Dakar. De façon spécifique, il s'agissait :

- De faire une étude quantitative des paramètres érythrocytaires, leucocytaires et plaquettaires ;
- De faire une étude corrélative entre ces paramètres sanguins et les différents facteurs de variations ;
- De comparer la population canine de Dakar à un lot de chiens résident de façon temporaire à Dakar.

L'étude a été menée durant les mois de Mai et de Juin 2009 à Dakar. Elle a consisté à faire des prélèvements de sang sur le terrain puis à l'analyse des échantillons de sang au laboratoire d'hématologie animale de l'EISMV de Dakar. Elle a porté sur 96 chiens dont 90 vivent de façon permanente à Dakar et les 6 autres y séjournent depuis 3 mois.

Des résultats de notre étude, il ressort que les paramètres sanguins des chiens domestiques de la région de Dakar ont des valeurs usuelles différentes de celles données dans la littérature. Les paramètres érythrocytaires et plaquettaires ont des normes inférieures aux normes publiées dans l'ouvrage de référence d'hématologie vétérinaire. En revanche, les paramètres leucocytaires ont des normes plus élevées que ces dernières.

Des facteurs de variations des paramètres sanguins ont aussi été mis en évidence à savoir la race, le sexe, l'âge et l'alimentation. Le sexe et l'alimentation ont un effet considérable sur les paramètres érythrocytaires. Les mâles ont une numération érythrocytaire et un hémocrite supérieur aux femelles. De plus, on note que les paramètres érythrocytaires augmentent en passant d'une alimentation ménagère à une alimentation de type industriel.

Quant à la lignée blanche, la race et l'âge ont une influence notable. La numération leucocytaire totale et celle des neutrophiles sont plus élevées chez

les chiens de race locale alors que la numération monocytaire et celle des granulocytes basophiles sont supérieures chez les jeunes.

Enfin, seul l'âge agit de façon considérable sur la numération plaquettaire qui est plus élevée chez les jeunes.

Concernant l'impact du lieu de résidence, il n'y a aucune différence significative entre les paramètres sanguins de chiens domestiques de Dakar et le lot de chiens résident à Dakar depuis 3 mois. Ce qui laisserait supposer que le cadre de vie agirait sur ces paramètres. Mais cette affirmation ne peut être confirmée qu'en faisant une étude sur les mêmes sujets à des endroits différents.

A travers cette étude dont l'originalité réside dans le choix du cadre d'étude, nos résultats confirment l'importance du choix des valeurs de références dans l'interprétation des résultats d'analyses biologiques. Mais aussi que ces derniers peuvent varier considérablement en fonction de plusieurs facteurs. D'où l'importance de leur prise en compte.

C'est ainsi que nous recommandons :

- Au laboratoire d'hématologie vétérinaire de l'E.I.S.M.V. de Dakar d'intégrer les résultats issus de notre étude dans leur base de données de référence afin d'avoir des valeurs usuelles mieux adaptées à notre contexte ;
- Aux propriétaires de chiens, à défaut de nourrir leurs chiens intégralement aux pâtés ou aux croquettes, d'en incorporer dans leur alimentation afin de se prémunir d'éventuels syndromes anémiques ;
- Aux vétérinaires praticiens de faire recours à des laboratoires d'hématologie vétérinaire afin d'avoir des analyses spécifiques à l'espèce animale concernée et des résultats beaucoup plus fiables ;
- Aux chercheurs :
 - D'approfondir les études sur les paramètres hématologiques à Dakar mais aussi dans tous les pays de la sous-région;
 - De faire la même étude pour d'autres types d'analyses biologiques (Biochimie, ...etc.).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. ANDERSEN A.C., WILLIAM GEE B.S., 1958.** Normal blood values in the beagle. *Med Vet*, **53**: 135-156.
- 2. ANGULO J., FLANDRIN G., 2003.** Automated detection of working area of peripheral blood smears using mathematical morphology. *Anal cell pathol*, **25**: 37-49
- 3. BOURGES-ABELLA N., DIQUELOU A., TRUMEL C., 2004.** Les leucocytes : valeurs usuelles et variations physiologiques chez le chien et le chat. *Le nouveau praticien vétérinaire n°16* : 9-12.
- 4. CHABANNE L., PONCE F., RIGAL D., 2004.** Cytokines et facteurs de croissance. *Le nouveau praticien vétérinaire, n° 16* : 69-72.
- 5. CHRISTOPHER M.M., 2004.** Evaluation of the blood smear. In: *wsava/fecava/hvms world congress, scientific proceedings vol.1. Acharnes (GREECE): Atlas Graphical S.A, 461p.*
- 6. CHUZEL T., 2003.** Le frottis sanguin : ses apports et ses limites. *Point vet*, **235(34)**, 28-36.
- 7. CRESPEAU F., 1981.** Le leucogramme normal du chien et du chat : L'animal de compagnie, **16(5)**, 463-476.
- 8. DEWHURST E.C., et al, 2003.** Analysis of canine and feline haemograms using the Vetscan HMT analyser. *J Small Animal Pract*, **44**: 443-448.
- 9. DUNN J., 2000.** Disorders of leukocyte number: 93-104.
- 10. FAURET R., IFRAH N., 1995.** Biologie médicale : hématologie. Cachan (FRA): Ed Med Int. 437 p.
- 11. FRENCH T.W., BLUE J.T., STOKOL T., 1997.** Hematologie atlas. Cornell University College for veterinary medicine. 137 p.
- 12. GERSTMAN B.B., 1986.** Evaluating the reliability of diagnosis test results. *JAVMA*, **188(3)**, 248-251.

- 13. GROULADE P., 1983.** Frottis sanguins, Prélèvement-Etalement-Coloration-Artefacts. L'Animal de compagnie, **16(5)**, 449-461.
- 14. GROULADE P., GUELFY J.F., 1983.** Atlas d'hématologie et de cytologie du chien et du chat. Paris(FRA) : CNVSPA, 249 p.
- 15. GUELFY J.F., 1981.** Renseignements fournis par l'examen d'un étalement de sang en pathologie du chien et du chat (leucoses exclues). L'animal de compagnie: **16(5)**, 479-484.
- 16. GUELFY J.F., TRUMEL C., 1995.** Evaluation d'un appareil d'hématologie, le QBC VetAutoread. Comparaison avec les méthodes de référence. Rev med Vet, **146**, 765-770.
- 17. HOUWEN B., 2000.** Blood film preparation and staining procedures. Lab hematol, **6**, 1-7.
- 18. JAIN N.C., 1986.** Schalm's veterinary hematology, 4th Ed. Philadelphia (USA): Lea and Febiger. 1221 p.
- 19. JONGH O., 1993.** Les variations quantitatives de la population leucocytaire sanguine. Point Vet, **25(154)**, 277-284.
- 20. KERR M.G., 1989.** Veterinary laboratory medicine. London (GBR): black well scientific publications. 270 p.
- 21. KIDD R., 1991.** The basic components of a leukogram. Med Vet, **86(3)**, 263-274.
- 22. KNOLL J.S., ROWELL S.L., 1996.** Clinical hematology. In - Clinic analysis, quality control, reference values, and system selection. Vet clin north Am: small Anim pract, **26(5)**, 981-1002.
- 23. LANTIS K.L., et al, 2003.** Elimination of instrument-driven reflex manuel 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.
- 24. LEDIEU D., 2004.** Le frottis sanguin : comment le réaliser et le lire chez le chien et le chat. *Le nouveau praticien vétérinaire n°16*, 19-20.

- 25. LEPOINTB., 2003.** Contribution à l'évaluation de l'approche de la formule leucocytaire, chez le chien et le chat, donnée par un automate d'hématologie à impédance (Vet ABC). Thèse Med Vet: Lyon.109 p.
- 26. LILLIEHOOK I., TVEDTEN H., 2003.** Investigation of hyperéosinophilie and potential treatments. Vet Clin North Am: SmallAnim Pract, **33(6)**, 1359-1378.
- 27. LORD-DUBE H., L'ITALIEN R., 1983.** Hématologie. Paris (FRA) : Maloine. 335 p.
- 28. MEDAILLE C., 1992.** Le prélèvement sanguin en hématologie et biochimie. Point Vet, **24(148)**, 81-82.
- 29. MELET SCHLOESING Laboratoires.** Partie théorique du stage MS4/MS9 Vet.
- 30. NAVARON H., 2002.** Valeurs usuelles en hématologie canine et féline : données du laboratoire d'hématologie clinique de l'école nationale vétérinaire de Lyon, *Thèse Med Vet : Lyon*. 130 p.
- 31. NCCLS, 1992.** Reference leukocyte differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods. Villanova (USA): NCCLS approved standard document h20-A vol 12 N°1992. 51 p.
- 32. PETIT S., VIENET V., DILLIERE-LESSEUR L., 2008.** Guide thérapeutique vétérinaire : Animaux de compagnie, 3^{ème} Ed. Ruel Malmaison(FRA) : Point Vet. 703 p.
- 33. QUARANTA J.F., PESCE A., CASSUTO J.P., 1990.** L'hémogramme, de la lecture au diagnostic. Paris (FRA) : Edition MASSON. 140 p.
- 34. 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.

- 35. SCHWARTZ D., 1975.** Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes, Flammarion médecin science, 103-116.
- 36. SHAFER J.A., 1991.** Preparation and interpretation of peripheral blood smears. Hematology and basic principle and practice, 1th Ed. New York (USA): Churchill Livingstone, 1790-1797.
- 37. SIROIS M., 1995.** Veterinary clinical laboratory procedures. New York (USA): Mosby, 160 p.
- 38. SODIKOFF C.H., 1995.** Laboratory profiles of small animal diseases, a guide to laboratory diagnosis, 2nd Ed. St Louis (USA): Mosby, 435 p.
- 39. THRALL M.A., et al, 2004.** Veterinary hematology and clinical chemistry, Philadelphia (USA): Lippincott Williams , Wilkins, 518.
- 40. TRIADOU P., 2000.** Quelques éléments d'histoire de l'hématologie biologique. Ann Biol Clin, **58(1)**, 19-28.
- 41. TVEDTEN H.W., 1981.** Hematology of normal dog and cat. Vet Clin North Am: Small Anim Pract, **11(2)**, 229-217.
- 42. WILLIARD M.D., TWEDTEN H.W., TURNWALD, 1999.** Small animal clinical diagnosis by laboratory methods, 3rd Ed. Philadelphia (USA): W.B. Saunders. 380 p.
- 43. WINTROBE M.M et al, 1981.** Clinical hematology, 8th Ed. Philadelphia (USA): Lea and Febiger. 1181p.

WEBOGRAPHIE

44. CARTE DE DAKAR (2005) ET SITES DE PRELEVEMENT

<http://www.senegal-online.com/francais/cartographie/dakar.htm&usg>

(Consulté le 13 mars 2009)

45. POLULATION CANINE A DAKAR

http://revmedvet.com/2002/RMV153_167_172.pdf

(Consulté le 02 janvier 2009)

46. SHEMA DE L'ERYTHROPOIESE

<http://demo.claroline.net/claroline/backends/download.php?url>

(Consulté le 23 décembre 2008)

47. SCHEMA DU COMPTEUR AUTOMATE MS9-3

http://www.elitechgroup.com/images/products/296/thumbnails/296_orig_249x230.jpg

(Consulté le 16 juillet 2009)

48. SCHEMAS DE LA DIFFERENCIATION DES CELLULES MYELOÏDES ET LYMPHOÏDES

<http://med.univ-tours.fr/>

(Consulté le 23 décembre 2008)



ANNEXES

Annexe 1 : Fiche d'enquête

Paramètres hématologiques (Dakar) PM/YK/08-09 (Cas individuel)

1. Date.....
2. Cas N°.....
3. Vétérinaire.....
4. Propriétaire.....
5. Nom animal.....
6. Commémoratifs

Race	
Sexe	
Age	
Poids	
Alimentation	
Etat général	
Température	
Diagnostic clinique	
Adresse	

7. Résultats d'analyses

- Numération Globulaire
- Taux d'Hémoglobine
- Hématocrite
- Taux de réticulocytes
- Numération plaquettaire
- Numération leucocytaire
- Formule leucocytaire

Nombre total de cellules comptabilisées	Effectif	Pourcentage
Granulocytes neutrophiles non segmentés		
Granulocytes neutrophiles murs		
Granulocytes éosinophiles		
Granulocytes basophiles		
Lymphocytes		
Grands lymphocytes granuleux		
Monocytes		

8. observations diverses

.....

.....

Annexe 2 : Fiche de comptage cellulaire

Nombre total de cellules	Neutrophiles jeunes	Neutrophiles murs	Eosinophiles	Basophiles	Grands lymphocytes granuleux	Lymphocytes	Monocytes
TOTAL							
POURCENTAGE							
Cellules anormales ou immatures							

LE (LA) CANDIDAT (E)

**VU
LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE INTER-ETATS DES
SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE DOYEN
DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR**

**LE PRESIDENT
DU JURY**

**VU ET PERMIS D'IMPRIMER _____
DAKAR, LE _____**

**LE RECTEUR, PRESIDENT DE L'ASSEMBLEE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR**

SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR

« Fidèlement attaché aux directives de Claude BOURGELAT, fondateur de l'enseignement vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes maîtres et mes aînés :

✎ d'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la dignité et de l'honneur de la profession vétérinaire ;

✎ d'observer en toutes circonstances les principes de correction et de droiture fixés par le code de déontologie de mon pays ;

✎ de prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire ;

✎ de ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

« *Que toute confiance me soit retirée s'il advient
que je me parjure. »*

ETUDE DU PROFIL HEMATOLOGIQUE CHEZ LES CHIENS DOMESTIQUES A DAKAR – SENEGAL

RESUME

La présente étude a porté sur l'étude du profil hématologique chez les chiens domestiques à Dakar (Sénégal). La 1^{ère} partie a été consacrée à une étude bibliographique portant sur les généralités sur le sang, les analyses sanguines et les variations des paramètres hématologiques. La deuxième partie a portée sur notre travail expérimental.

L'étude a été menée durant les mois de Mai et de Juin 2009 à Dakar. Elle a consisté à faire des prélèvements de sang sur le terrain puis à l'analyse des échantillons de sang au laboratoire d'hématologie animale de l'EISMV de Dakar. Elle a porté sur 96 chiens dont 90 vivent de façon permanente à Dakar et les 6 autres y séjournent depuis 3 mois.

Des résultats de notre étude, il ressort que les paramètres sanguins des chiens domestiques de la région de Dakar ont des valeurs usuelles différentes de celles données dans la littérature. Les paramètres érythrocytaires et plaquettaires ont des normes inférieures aux normes publiées dans l'ouvrage de référence d'hématologie vétérinaire. En revanche, les paramètres leucocytaires ont des normes plus élevées que ces dernières.

Des facteurs de variations des paramètres sanguins ont aussi été mis en évidence à savoir la race, le sexe, l'âge et l'alimentation.

Concernant l'impact du lieu de résidence, il n'y a aucune différence significative entre les paramètres sanguins des chiens domestiques de Dakar et le lot de chiens résidents à Dakar depuis 3 mois.

C'est ainsi que nous recommandons :

- Au laboratoire d'hématologie vétérinaire de l'E.I.S.M.V. de Dakar d'intégrer les résultats issus de notre étude dans leur base de données de référence afin d'avoir des valeurs usuelles mieux adaptées à notre contexte ;
- Aux chercheurs :
 - D'approfondir les études sur les paramètres hématologiques à Dakar mais aussi dans tous les pays de la sous-région;
 - De faire la même étude pour d'autres types d'analyses biologiques (Biochimie, etc.).

Mots clés : Hématologie – Chien – Dakar – Sénégal.

Auteur : Moussa Ndiaye DIOUF

E-mail : moussandiayediouf@yahoo.fr / moussandiayediouf@hotmail.com

Adresse : Grand Yoff, Lot 39 P^{elle} 12 (Dakar)

B.P. 12028 Dakar - SENEGAL

Tel: 00 221 77 560 71 88 / 00 221 33 827 79 62

