



HAL
open science

Création d'un outil pédagogique d'hématologie grâce à la plateforme d'apprentissage Moodle

Charlotte Houdinet

► **To cite this version:**

Charlotte Houdinet. Création d'un outil pédagogique d'hématologie grâce à la plateforme d'apprentissage Moodle. Médecine vétérinaire et santé animale. 2018. dumas-04885561

HAL Id: dumas-04885561

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04885561v1>

Submitted on 14 Jan 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Copyright

Année 2018



**CRÉATION D'UN OUTIL PÉDAGOGIQUE
D'HÉMATOLOGIE GRÂCE À LA PLATEFORME
D'APPRENTISSAGE MOODLE**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

Le 25 janvier 2018

par

Charlotte, Victoria, Françoise HOUDINET

JURY

Président : Pr. LORIC

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Madame Nathalie CORDONNIER-LEFORT

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Assesseur : Monsieur Sylvain BELLIER

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Invitée : Madame Isabelle LAGRANGE

Praticien hospitalier à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Liste des membres du corps enseignant

Octobre 2017

Directeur : M. le Professeur Degueurce Christophe

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : Cotard Jean-Pierre, Mialot Jean-Paul, Moraillon Robert, Parodi André-Laurent, Pilet Charles, Toma Bernard.
Professeurs émérites : Mme et MM. : Bénét Jean-Jacques, Chermette René, Combrisson Hélène, Courreau Jean-François, Deputte Bertrand, Niebauer Gert, Paragon Bernard, Pouchelon Jean-Louis.

Département d'élevage et de pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique de cardiologie</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Chetboul Valérie*- Dr Gkouni Vassiliki, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique de clinique équine</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Audigé Fabrice- Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences- Dr Bourzac Céline, Maître de conférences contractuelle- Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier- Pr Denoix Jean-Marie- Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier *- Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier- Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier- Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique de médecine interne</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Benchekroun Ghita, Maître de conférences- Pr Blot Stéphane*- Dr Canonne-Guibert Morgane Maître de conférence contractuel- Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier- Dr Maurey-Guéneq Christelle, Maître de conférences <p>Discipline : imagerie médicale</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Stambouli Fouzia, Praticien hospitalier	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Cléro Delphine, Maître de conférences- Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences- Pr Grandjean Dominique*- Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier- Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Fayolle Pascal- Dr Mailhac Jean-Marie, Maître de conférences- Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences- Pr Moissonnier Pierre- Pr Viateau-Duval Véronique* <p>Discipline : anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Zilberstein Luca, Maître de conférences <p>Discipline : ophtalmologie</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Chahory Sabine, Maître de conférences <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Département des Productions Animales et de la Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Augustin Jean-Christophe- Dr Bolnot François, Maître de conférences *- Pr Carlier Vincent <p>Unité pédagogique de maladies règlementées, zoonoses et épidémiologie</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Dufour Barbara*- Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia- Dr Praud Anne, Maître de conférences- Dr Rivière Julie, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Adjou Karim*- Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences- Dr Maxime Delsart, , Maître de conférences associé- Pr Millemann Yves- Dr Ravary-Plumioën Bérange, Maître de conférences- Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier	<p>Unité pédagogique de reproduction animale</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Constant Fabienne, Maître de conférences*- Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC)- Dr El Bay Sarah, Praticien hospitalier- Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Arné Pascal, Maître de conférences- Pr Bossé Philippe*- Dr De Paula Reis Aline, Maître de conférences- Pr Grimard-Ballif Bénédicte- Dr Leroy-Barassin Isabelle, Maître de conférences- Pr Ponter Andrew- Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Département des sciences biologiques et pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Chateau Henry - Adjoint : Pr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Chateau Henry- Pr Crevier-Denoix Nathalie- Pr Robert Céline* <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Boulouis Henri-Jean*- Pr Eloit Marc- Dr Le Poder Sophie, Maître de conférences- Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de biochimie</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Bellier Sylvain*- Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier- Dr Michaux Jean-Michel, Maître de conférences <p>Discipline : éducation physique et sportive</p> <ul style="list-style-type: none">- M. Philips Pascal, Professeur certifié <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences- Pr Fontaine Jean-Jacques*- Dr Laloy Eve, Maître de conférences- Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences	<p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</p> <ul style="list-style-type: none">- Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais)- Dr Desquilbet Loïc, Maître de conférences (Biostatistique, Epidémiologie) *- Dr Fournel Christelle, Maître de conférences contractuelle (Gestion et management)- Dr Marignac Geneviève, Maître de conférences <p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP)- Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattachée au DEPEC)- Dr Darmon Céline, Maître de conférences contractuelle (rattachée au DEPEC)- Pr Guillot Jacques*- Dr Polack Bruno, Maître de conférences- Dr Risco-Castillo Véronica, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</p> <ul style="list-style-type: none">- Pr Enriquez Brigitte,- Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences *- Pr Tissier Renaud <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</p> <ul style="list-style-type: none">- Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique)- Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie)- Dr Gilbert Caroline, Maître de conférences (Ethologie)- Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie)- Pr Tiret Laurent, (Physiologie, Pharmacologie) *
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

REMERCIEMENTS

Au Professeur de la Faculté de Médecine de Créteil,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.
Hommage respectueux.

Au docteur Nathalie Cordonnier-Lefort, Maître de conférences à l'ENVA,
Pour avoir accepté la direction de cette thèse,
Pour votre patience et votre disponibilité,
Sincères remerciements.

Au docteur Sylvain Bellier, Professeur à l'ENVA,
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de participer à cette thèse en tant qu'assesseur,
Remerciements respectueux.

Au docteur Isabelle Lagrange, Praticien Hospitalier à l'ENVA,
Pour m'avoir accompagnée tout au long de ce travail,
Pour vos conseils avisés, votre disponibilité et votre gentillesse,
Mes remerciements les plus sincères.

A Monsieur Bruno Allouche, du service informatique de l'ENVA,
Pour m'avoir guidée dans la création de la page internet,
Sincères remerciements.

A mes parents et mes grands-parents,
Pour votre soutien et amour inconditionnels, qui m'ont permis d'accomplir mon rêve.
Merci pour tout ce que vous m'apportez, je vous aime et je ne vous le dirai jamais assez.

A Astrid,
Merci d'être mon amie depuis si longtemps, tu es comme ma sœur.

A Marine,
Merci de m'avoir supportée tout au long de nos études ! J'espère que notre amitié durera encore longtemps.

A mes amies : Brünnhilde, Marine, Stéphanie, Céline, Juliette, Mathilde, Claire,
Merci pour toutes ces années et moments partagés avec vous. J'espère qu'il y en aura beaucoup d'autres.

Aux Stefies et aux Wadoux,
Merci de m'avoir autant gâtée et soutenue pendant toutes ces années !

A mon Ancienne,
Merci pour cet accueil inoubliable et les moments passés ensemble.

A mes trois poulottes,
C'est un honneur d'être votre Ancienne à toutes les trois, vous êtes formidables.

A tous mes Maîtres de stage et au cabinet vétérinaire des deux cantons,
Merci de m'avoir volontiers accueillie, formée et embauchée !

TABLE DES MATIÈRES

Table des matières	1
Liste des abréviations	6
Liste des figures	7
Liste des tableaux.....	10
Introduction.....	11
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	13
I. Méthodes d'investigation en hématologie	15
A. Microhématocrite	15
1. Principe	15
2. Réalisation.....	15
3. Valeurs et erreurs de mesure	16
4. Aspects du plasma	16
B. Numération-Formule Sanguine.....	17
1. Comptage par variation d'impédance	17
2. Comptage par cytométrie en flux.....	18
3. Analyseurs QBC (Quantitative Buffy Coat).....	18
C. Frottis sanguin	18
1. Intérêts d'un frottis sanguin	18
2. Réalisation d'un frottis sanguin.....	19
a. Equipement et matériel	19
b. Prélèvement	19
c. Anticoagulants.....	20
d. Etalement	20
e. Séchage	22
f. Fixation.....	22
g. Coloration.....	22
h. Conservation	24
3. Observation du frottis	24
a. Qualité de l'étalement.....	24
b. Qualité de la coloration.....	24
c. Technique de lecture.....	25
d. Formule leucocytaire manuelle	26
II. Cellules de la lignée érythrocytaire	27
A. Morphologie normale	27

1.	Hématies	27
a.	Couleur.....	27
b.	Taille.....	28
c.	Forme.....	29
d.	Disposition des hématies	30
e.	Inclusions physiologiques.....	31
2.	Hématies polychromatophiles	32
3.	Erythroblastes	33
B.	Artefacts	34
1.	Echinocytes : hématies crénelées	34
2.	Torocytes.....	34
3.	Artéfacts liés au séchage	35
4.	Précipités de colorants	35
C.	Aspects pathologiques.....	35
1.	Modifications du nombre d'hématies	35
a.	Polycythémie.....	35
b.	Anémie.....	36
2.	Modifications de la couleur des hématies	38
a.	Polychromatophilie.....	38
b.	Hypochromie	38
3.	Modifications de la taille des hématies	39
a.	Macrocytose.....	39
b.	Microcytose.....	39
4.	Modifications de la forme.....	40
5.	Inclusions pathologiques	47
a.	Corps de Howell-Jolly.....	47
b.	Corps de Heinz	47
c.	Cristaux d'hémoglobine.....	48
d.	Ponctuations basophiles	48
e.	Erythroblastes	49
f.	Granulations sidériques.....	49
g.	Agents infectieux.....	49
III.	Leucocytes.....	53
A.	Granulocytes.....	53
1.	Granulocytes neutrophiles.....	53
a.	Morphologie normale des granulocytes neutrophiles	53

b.	Précurseurs des granulocytes neutrophiles	54
c.	Courbe d'Anerth	55
d.	Modifications neutrophiliques toxiques.....	57
e.	Anomalies neutrophiliques héréditaires	58
f.	Inclusions cytoplasmiques.....	60
g.	Neutrophiles géants	62
h.	Artefacts des granulocytes neutrophiles.....	63
i.	Modifications du nombre de granulocytes neutrophiles	63
2.	Granulocytes éosinophiles	65
a.	Morphologie normale des granulocytes éosinophiles.....	65
b.	Modifications morphologiques des granulocytes éosinophiles	66
c.	Modifications du nombre de granulocytes éosinophiles	66
3.	Granulocytes basophiles	67
a.	Morphologie normale des granulocytes basophiles	67
b.	Modifications morphologiques des granulocytes basophiles.....	69
c.	Modifications du nombre de granulocytes basophiles.....	69
B.	Lymphocytes.....	70
1.	Morphologie normale des lymphocytes	70
2.	Modifications morphologiques des lymphocytes	70
a.	Lymphocytes réactifs.....	70
b.	Vacuoles, granulations et inclusions des lymphocytes.....	71
c.	Grands lymphocytes granuleux tumoraux.....	71
d.	Lymphocytes blastiques	72
3.	Modifications du nombre de lymphocytes.....	72
a.	Lymphocytose	72
b.	Lymphopénie.....	73
C.	Monocytes	75
1.	Morphologie normale des monocytes.....	75
2.	Modifications morphologiques des monocytes	76
3.	Modifications du nombre de monocytes	76
IV.	Thrombocytes	78
A.	Morphologie normale des thrombocytes.....	78
B.	Modifications morphologiques des thrombocytes	78
1.	Thrombocytes activés.....	78
2.	Macrothrombocytes	79
3.	Hypogranulation	80

4. Inclusions	80
C. Modifications du nombre de thrombocytes	80
1. Thrombocytose.....	80
2. Thrombocytopénie.....	81
V. Cellules diverses et éléments infectieux extracellulaires.....	82
A. Images de mitose	82
B. Noyaux libres	82
C. Images d'apoptose	83
D. Cellules endothéliales.....	83
E. Mégacaryocytes.....	83
F. Mastocytes.....	84
G. Cellules néoplasiques.....	84
H. Parasites extracellulaires.....	85
1. Microfilaires	85
2. Trypanosomes.....	86
I. Bactéries extracellulaires.....	86
CREATION DU SUPPORT PEDAGOGIQUE MULTIMEDIA.....	87
I. Enseignement de l'hématologie à l'ENVA.....	89
II. Elaboration du projet pédagogique	89
A. Objectifs du projet.....	89
B. Public ciblé.....	90
C. Choix du support.....	90
III. Création du support multimédia	90
A. Création des ressources	90
1. Préparation des lames.....	90
2. Réalisation des photographies	91
3. Traitement des photographies.....	91
4. Choix des cas cliniques	91
B. Elaboration de la page EVE.....	92
1. Organisation générale de la page	92
2. Création du glossaire.....	93
3. Création d'une question.....	94
4. Elaboration du test d'auto-apprentissage	97
5. Création des cas cliniques.....	98
IV. Discussion	98
A. Limites du projet pédagogique.....	98

B. Intérêts du projet.....	99
Bibliographie.....	101
ANNEXES	105

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AHMI** : Anémie Hémolytique à Médiation Immune
- AIE** : Anémie Infectieuse Equine
- ARN** : Acide ribonucléique
- BCB** : Bleu de Crésyl Brillant
- BVD** : Bovine Viral Diarrhea
- CCMH** : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
- CIVD** : Coagulation Intravasculaire Disséminée
- CM** : Cours magistral
- EDTA** : Ethylène Diamine TétraAcétate
- ENVA** : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
- EPO** : Erythropoïétine
- EVE** : Enseignement et Vie Etudiante
- FAD** : Flavine Adénine Dinucléotide
- FeLV** : Virus de la Leucose Féline
- FIV** : Virus de l'Immunodéficience Féline
- G6PD** : Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase
- MGG** : May-Grünwald et Giemsa
- NBM** : Nouveau Bleu de Méthylène
- NFS** : Numération-Formule Sanguine
- OBJ** : Objectif
- PPA** : Peste Porcine Africaine
- PPC** : Peste Porcine Classique
- QBC** : Quantitative Buffy Coat
- QCM** : Question à choix multiple
- TCMH** : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
- TD** : Travaux dirigés
- VGM** : Volume Globulaire Moyen
- VPM** : Volume Plaquettaire Moyen

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma d'un tube à hématocrite	15
Figure 2 : Photographie de tubes à hématocrite (normal et lipémique)	16
Figure 3 : Réalisation d'un frottis sanguin par la technique dite « en poussant »	21
Figure 4 : Schéma des différentes zones d'un frottis sanguin	25
Figure 5 : Hématies de chien.....	27
Figure 6 : Hématies de chat.....	27
Figure 7 : Hématies de cheval.....	27
Figure 8 : Hématies de bovin.....	27
Figure 9 : Anisocytose érythrocytaire	28
Figure 10 : Anisocytose érythrocytaire	28
Figure 11 : Poïkilocytose sévère.....	29
Figure 12 : Poïkilocytose diverse	29
Figure 13 : Poïkilocytes de caprin.....	29
Figure 14 : Rouleaux de chat.....	30
Figure 15 : Rouleaux de cheval	30
Figure 16 : Agglutination confirmée	30
Figure 17 : Corps de Howell-Jolly	31
Figure 18 : Corps de Heinz.....	31
Figure 19 : Corps de Heinz au BCB	31
Figure 20 : Réticulocytes parmi des hématies matures	32
Figure 21 : Réticulocytes colorés au BCB	32
Figure 22 : Schémas et photographies des érythroblastes.....	33
Figure 23 : Echinocytes de chien.....	34
Figure 24 : Photographie de torocytes.....	34
Figure 25 : Inclusions réfringentes artéfactuelles	35
Figure 26 : Photographie d'érythroblaste acidophile et de réticulocyte.....	37
Figure 27 : Photographie de polychromatophiles	38
Figure 28 : Annulocytes et hypochromie sévère.....	38
Figure 29 : Hypochromie sévère.....	39
Figure 30 : Photographie d'acanthocytes	40
Figure 31 : Photographie de codocytes	41
Figure 32 : Photographie d'un dacryocyte	41
Figure 33 : Photographie d'échinocytes	42
Figure 34 : Photographie d'elliptocytes.....	42
Figure 35 : Photographie d'eccentrocytes	43
Figure 36 : Photographie d'un kératocyte	44
Figure 37 : Photographie de schizocytes.....	44
Figure 38 : Photographie de sphérocytes	45
Figure 39 : Photographie de stomatocytes	46
Figure 40 : Photographie d'hématies lysées.....	46
Figure 41 : Corps de Howell-Jolly	47
Figure 42 : Corps de Heinz.....	47
Figure 43 : Cristal d'hémoglobine	48
Figure 44 : Photographie de ponctuations basophiles.....	48
Figure 45 : Erythroblaste et réticulocyte	49
Figure 46 : Mycoplasmoses chez un chien	50

Figure 47 : Mycoplasmosse chez un chat FIV +	50
Figure 48 : Photographie de piroplasmes	51
Figure 49 : Photographie d'inclusions de maladie de Carré	52
Figure 50 : Granulocytes neutrophiles de chien	53
Figure 51 : Granulocyte neutrophile de bovin	54
Figure 52 : Granulocytes neutrophiles de cheval.....	54
Figure 53 : Métamyélocyte, neutrophile non segmenté et neutrophile hyposegmenté	54
Figure 54 : Courbe d'Arneth chez les carnivores	55
Figure 55 : Virage à gauche : granulocytes neutrophiles hyposegmentés	55
Figure 56 : Granulocytes neutrophiles hyposegmentés.....	56
Figure 57 : Granulocyte neutrophile hypersegmenté.....	56
Figure 58 : Corps de Döhle dans un granulocyte neutrophile.....	57
Figure 59 : Neutrophile hyposegmenté avec corps de Döhle	57
Figure 60 : Granulocytes neutrophiles aux modifications toxiques discrètes.....	58
Figure 61 : Granulocytes neutrophiles à nombreuses modifications toxiques	58
Figure 62: Granulations magenta dans des granulocytes neutrophiles de chat Sacré de Birmanie	59
Figure 63 : Granulocyte neutrophile avec anomalie de Pelger-Hüet	60
Figure 64 : Morula d' <i>Ehrlichia ewingii</i>	61
Figure 65 : Morula d' <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	61
Figure 66 : Inclusion d' <i>Hepatozoon</i> et artefact de vieillissement du noyau.....	61
Figure 67 : Granulocyte neutrophile géant, hyposegmenté et toxique.....	62
Figure 68 : Granulocytes éosinophiles de chat.....	66
Figure 69 : Granulocyte éosinophile de cheval.....	66
Figure 70 : Deux granulocytes éosinophiles et un neutrophile de chien	66
Figure 71 : Granulocyte basophile.....	68
Figure 72 : Granulocyte basophile avec peu de granulations	68
Figure 74 : Granulocyte basophile de cheval.....	68
Figure 73 : Granulocyte basophile de chat	68
Figure 75 : Petit lymphocyte de chat	70
Figure 76 : Lymphocyte activé de chien	71
Figure 77 : Lymphocyte activé de chat	71
Figure 78 : Lymphocyte à grains	72
Figure 79 : Monocyte de chien	75
Figure 80 : Monocyte activé.....	76
Figure 81 : Monocyte activé de chien	76
Figure 82 : Thrombocytes de chien entre des hématies.....	78
Figure 83 : Thrombocytes de taille variable chez un chat.....	78
Figure 84 : Thrombocyte activé avec pseudopodes	79
Figure 85 : Amas plaquettaire.....	79
Figure 86 : Amas plaquettaire et leucocytose.....	79
Figure 87 : Macrothrombocytes de chat	80
Figure 88 : Macrothrombocyte de chien	80
Figure 89 : Figure de mitose chez un chat avec une leucémie érythroïde.....	82
Figure 90 : Photographie de mégacaryocyte	83
Figure 91 : Mastocyte de chien.....	84
Figure 92 : Mastocyte de chien.....	84

Figure 93 : Photographie de cellules lymphomateuses	85
Figure 94 : Photographie de microfilaire	86
Figure 95 : Appareil photographique monté sur le microscope.....	91
Figure 96 : Page d'accueil	92
Figure 97 : Deuxième partie de la page d'accueil	93
Figure 98 : Création d'un article du lexique	93
Figure 99 : Article sur les acanthocytes extrait du lexique	94
Figure 100 : Choix d'un type de question	95
Figure 102 : Création d'un QCM.....	96
Figure 102 : Création des réponses d'un QCM	96
Figure 103 : Exemple de feedback	97
Figure 104 : Banque de questions du test d'auto-apprentissage.....	97

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Défauts possibles lors de l'étalement du frottis	22
Tableau 2 : Caractéristiques de taille et de colorabilité des hématies des principales espèces domestiques	28
Tableau 3 : Seuils de régénération lors d'anémie chez le chien	36
Tableau 4 : Principales espèces de piroplasmes rencontrées selon l'espèce domestique	51
Tableau 5 : Causes de formation des neutrophiles géants	62
Tableau 6 : Etiologie et mécanismes principaux de la neutrophilie	63
Tableau 7 : Causes et mécanismes d'une neutropénie	65
Tableau 8 : Causes d'une éosinophilie et d'une éosinopénie	67
Tableau 9 : Causes de la basophilie	69
Tableau 10 : Causes d'une lymphocytose	73
Tableau 11 : Etiologie et mécanismes de thrombocytose	81
Tableau 12 : Enseignement de l'hématologie à l'ENVA	89
Tableau 13 : Cas cliniques sélectionnés	91

INTRODUCTION

Les examens complémentaires disponibles au chevet de l'animal sont de plus en plus fréquents en médecine vétérinaire, avec le développement d'analyseurs et de tests rapides. La majorité des cliniques comprend un laboratoire, le plus souvent équipé d'un microscope. En théorie, le frottis sanguin est donc un acte qui pourrait être réalisé en routine en clientèle vétérinaire. C'est en effet un acte rapide, peu coûteux et la plupart des cliniques possède l'équipement nécessaire. Pourtant, il reste un acte assez peu réalisé en clientèle et les praticiens le réservent souvent à quelques cas très spécifiques, comme la recherche de *Babesia*. L'une des raisons avancées est un défaut dans l'apprentissage de la lecture des frottis, notamment dans la reconnaissance des lignées cellulaires sanguines. Or tout vétérinaire praticien devrait maîtriser les bases de cet outil diagnostic. En effet, il est indispensable pour vérifier la cohérence des données chiffrées qu'un automate peut fournir. Il est également très utile pour caractériser une anémie, différencier une inflammation aiguë d'une inflammation chronique ou diagnostiquer une hémopathie maligne (leucémie, lymphome...).

L'enseignement de l'hématologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA) est composé de cours magistraux, de travaux dirigés et pratiques au cours des premières années du cursus. Il est complété par quelques visites au laboratoire d'hématologie en quatrième année, qui précèdent l'arrivée de l'étudiant en clinique.

Ce travail a pour objectif de compléter l'enseignement actuel en mettant à disposition des étudiants un support informatique d'auto-apprentissage. Cet outil, disponible sur la plateforme d'enseignement en ligne de l'ENVA, est constitué de cas cliniques interactifs et de tests. Ce type d'apprentissage est déjà très développé dans certaines unités d'enseignement. Il semble être apprécié à la fois des enseignants et des étudiants qui l'utilisent.

La première partie de ce travail est une synthèse bibliographique consacrée aux techniques d'études en hématologie et aux différentes étapes de réalisation et d'analyse d'un frottis sanguin. Les espèces étudiées sont des espèces domestiques courantes : le chien, le chat, le cheval, les bovins, les ovins et les caprins. La seconde partie est consacrée à l'élaboration de du support pédagogique sur le site de l'Enseignement et de la Vie Etudiante (EVE) de l'ENVA.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Méthodes d'investigation en hématologie

Les principales méthodes d'investigation utilisées en hématologie sont présentées ci-dessous, qu'elles soient manuelles ou automatisées. Elles sont utilisables pour toutes les espèces étudiées dans cette thèse : chiens, chats, chevaux, bovins, ovins et caprins.

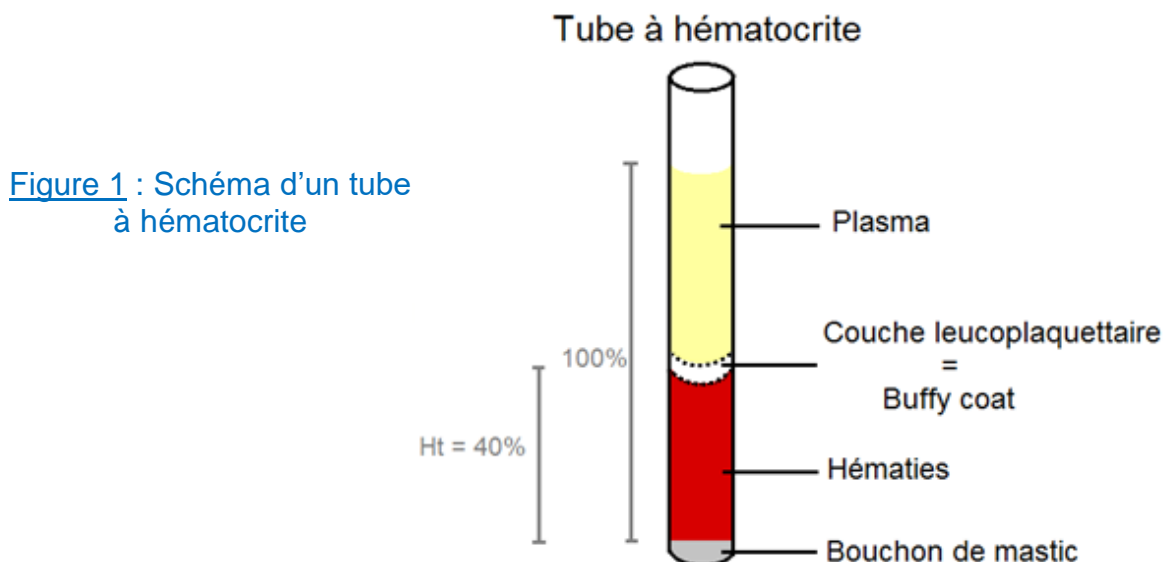
A. Microhématocrite

1. Principe

Le microhématocrite ou hématocrite manuel correspond à la fraction de volume sanguin occupée par les hématies après centrifugation dans un tube à microhématocrite. Il est exprimé en pourcentage ou en fraction décimale (40 % ou 0,40). Cette technique est la plus facile à réaliser pour estimer manuellement le nombre d'hématies. Elle est souvent utilisée en clinique, mais surtout dans les unités de soins intensifs ou en laboratoire d'hématologie. Le microhématocrite est la technique de référence pour mesurer l'hématocrite. Il permet de vérifier la concordance avec la valeur calculée par un automate (Torrance, 2000 ; Harvey, 2012).

2. Réalisation

La technique nécessite du sang conservé dans un tube avec un anticoagulant. On homogénéise délicatement le prélèvement en retournant plusieurs fois le tube. On utilise alors un tube à hématocrite qui est un petit tube capillaire en verre (figure 1). L'opérateur introduit le tube à hématocrite dans le tube de prélèvement et le remplit aux deux tiers par capillarité. On bouche une extrémité avec une pâte à scellement. On place ensuite le tube à hématocrite dans une centrifugeuse à microhématocrite, côté obturé vers l'extérieur, pendant cinq minutes. La centrifugation permet une séparation des cellules et du plasma. Le tube est ensuite placé sur un abaque de lecture : l'hématocrite est obtenu en divisant la longueur occupée par les hématies par la longueur totale de tube remplie (soit les hématies, les leucocytes et le plasma).



Il est possible d'observer une fine couche blanche appelée buffy coat, à la limite entre le plasma et les hématies. Cette couche correspond aux leucocytes et aux plaquettes.

3. Valeurs et erreurs de mesure

Les valeurs normales d'hématocrite sont assez conservées d'une espèce à l'autre : de 24 à 46 % chez les bovins, de 27 à 43 % chez le cheval, de 30 à 45 % chez le chat et de 35 à 57 % chez le chien (jusqu'à 50 à 65 % chez certaines races de lévriers comme le Greyhound) (Torrance, 2010 ; Tvedten, 2010). Ces valeurs ne peuvent être interprétées que chez un patient normohydraté. En effet, toute déshydratation provoque une hémococoncentration, d'où une augmentation du microhématocrite. L'examen est donc à réaliser une fois la déshydratation corrigée, pour ne pas sous-estimer une anémie.

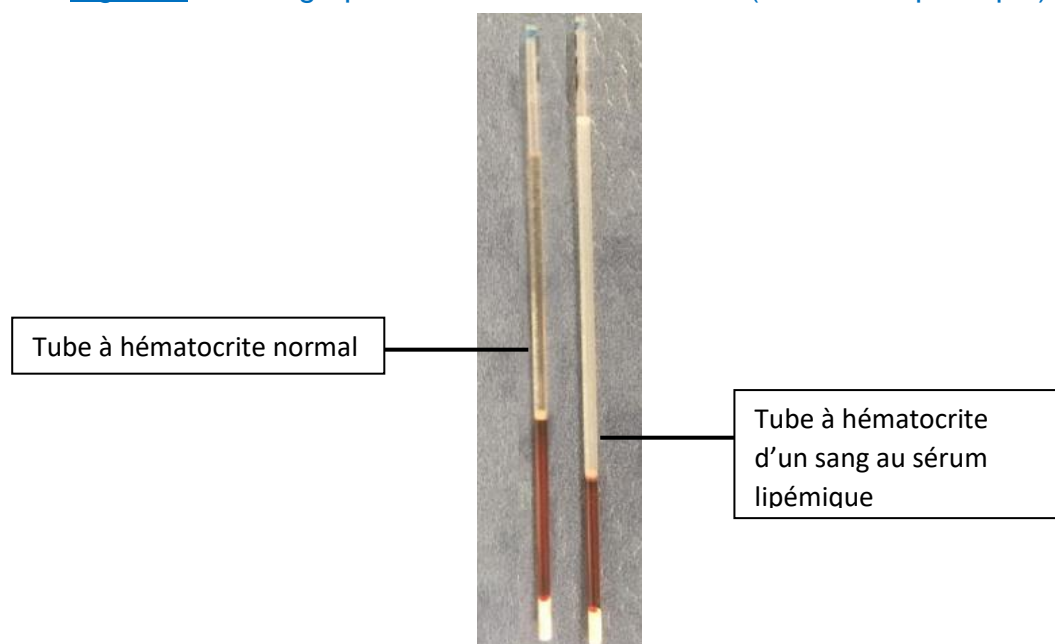
Les principales erreurs de mesure sont dues à un défaut de centrifugation. En effet, il faut que les micro-centrifugeuses atteignent une vitesse très élevée (11 500 à 15 000 tours par minute, pendant cinq minutes), nécessaire pour séparer les cellules du plasma. Or les centrifugeuses classiques n'atteignent pas cette vitesse et augmenter la durée de centrifugation ne permet pas de compenser ce défaut de vitesse (Torrance, 2000).

4. Aspects du plasma

La mesure du microhématocrite indique le volume occupé par les hématies et permet donc d'objectiver une anémie. Il ne fournit pas d'informations sur la morphologie des cellules. Cependant, la centrifugation permet d'observer l'aspect du plasma. Le plasma normal est clair dans toutes les espèces. Il est presque transparent chez les petits animaux, les porcs ou les ovins. Il est plutôt jaune clair chez le cheval, qui a une concentration naturellement plus élevée en bilirubine. Le plasma des bovins varie de transparent à jaune clair selon leur ration alimentaire.

Un plasma rouge orangé est hémolysé, de façon pathologique ou artefactuelle. Un plasma jaune foncé, brun ou verdâtre est qualifié d'ictérique. Un plasma trouble ou laiteux est lipémique, comme sur la figure 2, suite à une augmentation de la concentration sanguine en lipides (Harvey, 2012).

Figure 2 : Photographie de tubes à hématocrite (normal et lipémique)



B. Numération-Formule Sanguine

La Numération-Formule Sanguine (NFS), ou hémogramme, correspond au comptage des cellules aujourd'hui réalisé par un automate d'hématologie. Cette analyse est un examen régulièrement réalisé par les praticiens. Elle permet de compter les cellules des différentes lignées sanguines, de calculer l'hématocrite, de doser la l'hémoglobémie et de calculer les constantes érythrocytaires (volume, numération, concentration en hémoglobine). Elle établit également la formule leucocytaire, donnant la répartition des différents types de leucocytes en pourcentage et leur numération (Torrance, 2000 ; Moritz et Becker, 2010).

Un frottis sanguin doit idéalement être réalisé en parallèle de la NFS, pour apprécier la fiabilité du comptage automatique. Les résultats quantitatifs et qualitatifs que fournit la NFS participent à l'inverse à l'interprétation du frottis.

Quelle que soit la méthode utilisée par l'automate, il est important de toujours paramétrer l'appareil pour l'espèce étudiée, lorsque cela est possible.

1. Comptage par variation d'impédance

Le comptage par impédance électrique, aussi appelé principe Coulter, est la méthode de référence. Elle repose sur la faible conductivité électrique des cellules. Elles sont placées en suspension dans un fluide conducteur, entre deux électrodes avec un courant continu. Chaque passage d'une cellule entraîne alors une augmentation de la résistance électrique. Plus la cellule est volumineuse, plus la résistance augmente (Torrance, 2000 ; Moritz et Becker, 2010).

Cette méthode permet donc de déterminer le nombre de cellules ainsi que leur volume. On obtient directement le Volume Globulaire Moyen (VGM) des hématies, intéressant pour mettre en évidence une modification de leur taille.

L'hématocrite est obtenu par calcul à partir du VGM et du nombre d'hématies. Toute erreur dans l'obtention du VGM (lors d'agrégats d'hématies par exemple) entraînera une valeur fautive de l'hématocrite. De plus, cette détermination par calcul de l'hématocrite ne permet pas d'évaluer l'aspect du plasma. La mesure par le tube à microhématocrite reste donc la technique de référence.

Le compteur Coulter classe les cellules selon des seuils de résistance électrique prédéfinis, qui dépendent de la taille cellulaire. Or la taille des cellules change selon l'espèce considérée, des erreurs de comptage sont possibles si l'automate est mal calibré. Ainsi, les chats ayant des hématies de petite taille, elles risquent d'être comptées comme des plaquettes si l'appareil est calibré pour de la médecine humaine.

L'automate mesure une numération pour tous les types cellulaires, le taux d'hémoglobine total de l'échantillon, un VGM des hématies et un Volume Plaquettaire Moyen (VPM). L'analyseur fournit également par calcul les valeurs suivantes : l'hématocrite, la Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) donnée en pourcentage, et la Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH) exprimée en picogrammes.

2. Comptage par cytométrie en flux

La cytométrie en flux est une mesure optique qui repose sur la diffraction de la lumière lors du passage d'une cellule dans un faisceau lumineux. Les faisceaux actuellement utilisés dans les automates sont des rayons lasers. Des photorécepteurs placés dans l'appareil détectent les modifications des rayons lumineux. Le calcul des angles de diffraction, réfraction et réflexion permet d'obtenir des informations sur le volume, la surface et le contenu (granulations, lobations du noyau, concentration en hémoglobine) des cellules (Torrance, 2000 ; Moritz et Becker, 2010).

Les automates à laser peuvent également compter les lignées leucocytaires selon la taille et les caractéristiques cytoplasmiques des cellules. Cette méthode fournit des informations fiables sur les différents types cellulaires et constitue la technique de référence en médecine humaine.

3. Analyseurs QBC (Quantitative Buffy Coat)

Le principe de ces analyseurs QBC est le même que celui d'un tube à microhématocrite : la stratification des hématies, leucocytes et plaquettes selon leur densité, suite à une centrifugation de l'échantillon. Les couches cellulaires sont différenciées par fluorescence grâce à un colorant, l'acridine orange, qui marque certains composants cellulaires (ADN, ARN, glucosamines, lipoprotéines). Sous une lumière bleue-violette, les hématies normales ne sont pas marquées par l'acridine, les granulocytes fluorescent en orange-jaune, les lymphocytes et les monocytes brillent en vert et les plaquettes émettent une fluorescence jaune pâle. La mesure des différentes épaisseurs est utilisée pour déterminer le nombre total de leucocytes, la proportion de cellules possédant des granulations ou non parmi les leucocytes, le taux de plaquettes et le taux d'hématies (Torrance, 2000 ; Moritz et Becker, 2010).

Avec cette technique, les granulocytes ne sont pas classés en neutrophiles, éosinophiles et basophiles. De plus, les lymphocytes et les monocytes sont regroupés ensemble. Aucune modification morphologique n'est détectée, ce qui rend l'examen du frottis sanguin indispensable en cas d'analyse QBC.

C. Frottis sanguin

Un frottis sanguin correspond à l'observation microscopique des cellules sanguines, suite à l'étalement et la coloration d'une goutte de sang. Il doit toujours être réalisé en parallèle de l'analyse fournie par un automate.

1. Intérêts d'un frottis sanguin

Un frottis sanguin permet :

- D'observer la morphologie des cellules sanguines, pour détecter toute anomalie ;
- De mettre en évidence une anémie et la caractériser (caractère régénératif) ;
- D'identifier la cause d'une anémie (sphérocytes, corps de Heinz, *etc.*)
- De déterminer les proportions des lignées leucocytaires ;
- De confirmer une éventuelle thrombopénie détectée par l'automate (absence d'amas plaquettaire) ;
- De mettre en évidence des parasites ou bactéries sanguins, des cellules anormales (lymphomateuses, leucémiques, *etc.*).

Fréquents chez le chat, les agrégats plaquettaires diminuent la numération plaquettaire estimée par l'automate, d'où un faux diagnostic de thrombocytopénie (Torrance, 2000).

Il est également conseillé de réaliser et d'envoyer un frottis non coloré accompagnant l'échantillon lors de l'envoi d'un prélèvement sanguin au laboratoire pour hémogramme. Ce frottis pourra être lu et servir à distinguer une morphologie cellulaire pathologique, d'une morphologie cellulaire secondaire à une mauvaise conservation du prélèvement sanguin (Torrance, 2000 ; Kerr, 2002).

Enfin, la production de frottis sanguins de qualité est une compétence qui s'acquiert par un entraînement constant. La réalisation régulière de frottis sanguins permet donc au praticien de garder à niveau ses compétences, tant pour l'interprétation que pour le geste technique.

2. Réalisation d'un frottis sanguin

a. Equipement et matériel

L'observation d'un frottis sanguin nécessite un microscope optique binoculaire de qualité et bien entretenu. Il doit disposer au minimum des objectifs x10, x40 et x100 à immersion.

Le matériel pour l'étalement comprend deux lames de verre, standard ou à extrémité dépolie, ainsi que le matériel de ponction veineuse. Les lames doivent être propres et dégraissées, sans poussière, ni empreinte. Les adhésifs cytologiques sont déconseillés car ils peuvent colorer le fond du frottis (Walker, 2006).

b. Prélèvement

Le prélèvement de sang est réalisé de préférence dans une veine moyenne à large, permettant d'obtenir facilement la quantité de sang souhaitée. Il faut donc privilégier la veine jugulaire chez les chats, les petits chiens, les chevaux et les bovins. La veine céphalique ou la veine jugulaire peuvent être utilisées chez les chiens de moyenne à grande taille, d'après Thrall *et al.* (2012).

Dans l'idéal, le patient doit être calme et le prélèvement effectué dès la première tentative. Les prélèvements à partir de griffe coupée ou d'incision cutanée superficielle (bord du pavillon auriculaire par exemple) seront plus difficiles à interpréter, en raison de facteurs pro-coagulants produits par les tissus. Ils ne sont donc pas recommandés par Walker, sauf lors de recherche de parasites sanguins intracellulaires, comme *Babesia spp.*, plus nombreuses dans le sang périphérique.

Certains auteurs comme Harvey (2012) recommandent un prélèvement directement dans un tube sous vide, qui serait préférable à l'utilisation d'une seringue et d'une aiguille puis transfert dans un tube. Cette technique diminuerait la formation d'amas plaquettaires et de caillots, qui sont à éviter pour la réalisation d'une NFS, d'un microhématocrite ou d'un frottis sanguin. En cas de prélèvement avec une aiguille et une seringue, il vaut mieux démonter l'aiguille après le prélèvement puis transférer le sang dans un tube après avoir enlevé le bouchon. Cela permet d'éviter de léser les cellules par un deuxième passage dans l'aiguille (Powell et Torrance, 2012).

Le sang total étant plus stable à 4°C, le prélèvement doit être conservé au réfrigérateur. Cependant, les prélèvements se dégradent en 36 heures même lorsqu'ils

sont conservés au froid. En effet, le refroidissement et la conservation augmentent les risques d'agrégats et de modifications cellulaires. Le frottis doit donc être réalisé et séché le plus rapidement possible après le prélèvement (Kerr, 2002 ; Harvey, 2012).

c. Anticoagulants

L'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) est l'anticoagulant de choix pour l'analyse sanguine, dans la majorité des espèces.

L'héparine conserve mal la morphologie et la coloration cellulaire : les leucocytes se lient à l'héparine et fixent moins les colorants, et les plaquettes forment davantage d'amas qu'avec l'EDTA. L'héparine est donc à éviter comme anticoagulant, sauf chez certains oiseaux et reptiles (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

Le citrate est un anticoagulant utilisable, il prévient les amas cellulaires, mais l'échantillon doit être dilué à 10 %, ce qui perturbe les numérations cellulaires (Walker, 2006).

Quel que soit l'anticoagulant choisi, les proportions entre le sang et l'anticoagulant doivent être respectées, pour limiter les artefacts cellulaires.

d. Etalement

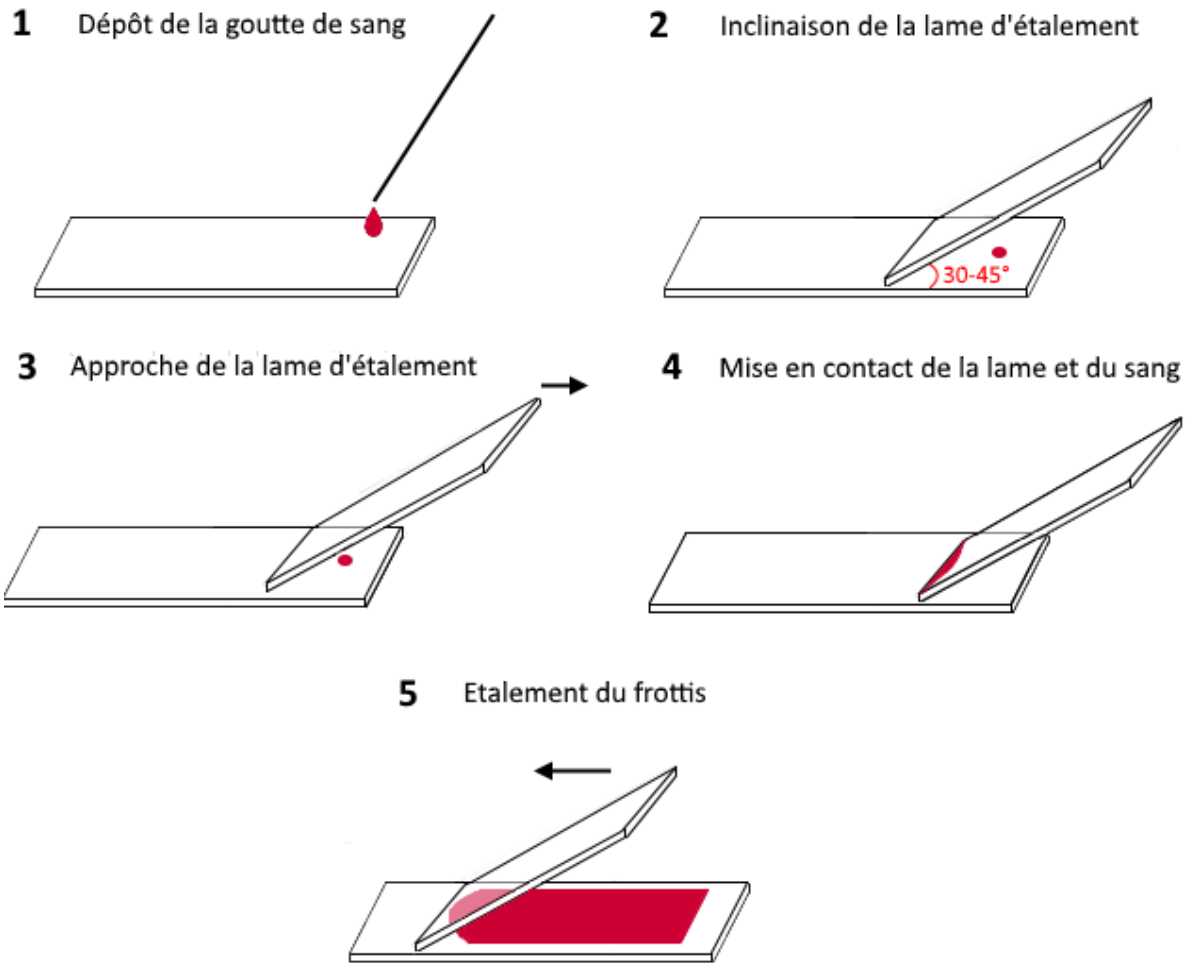
L'objectif est d'obtenir une couche unique de cellules, présentant le minimum d'artefacts. Il est nécessaire pour cela de respecter une technique spécifique et reproductible, permettant ensuite l'interprétation du frottis.

La technique la plus répandue, dite « en poussant », utilise deux lames de verre porte-objet et se déroule selon les étapes suivantes :

- Homogénéiser le prélèvement : retourner doucement le tube cinq à dix fois.
- Prélever du sang par capillarité grâce à un tube à microhématocrite ;
- Déposer une goutte de 2 à 3 mm de diamètre à une extrémité de la lame (étape 1 de la figure 3) ;
- Incliner la seconde lame (lame d'étalement) d'un angle de 30 à 45° sur la première lame, en avant de la goutte de sang (étape 2 de la figure 3). Reculer la lame d'étalement jusqu'à toucher la goutte de sang (étape 3). Laisser le sang s'étaler sur les 2/3 de la largeur de la lame (étape 4) ;
- Glisser la lame d'étalement en poussant le long de la première lame, en évitant d'appuyer (étape 5 de la figure 3). Le geste doit être continu et régulier (Walker, 2006 ; Lallemand et Rannou, 2014).

Si le sang du patient a une viscosité réduite, en cas d'anémie sévère par exemple, il est possible d'augmenter l'angle de la lame d'étalement (40-45°) pour obtenir un frottis suffisamment épais. A l'inverse, un angle de moins de 30 degrés facilitera la préparation de la lame en cas d'hémoconcentration importante.

Figure 3 : Réalisation d'un frottis sanguin par la technique dite « en poussant »



L'objectif est d'obtenir un frottis avec une queue arrondie, en biseau. Le frottis s'étend en général sur la moitié de la longueur de la lame et occupe quasiment toute la largeur.

Une autre technique utilisable est quasiment identique à celle-ci, mais la lame d'étalement est inclinée dans l'autre direction. L'opérateur doit alors tirer la lame vers lui. Cependant, cette technique présente davantage de risques de léser les cellules.

Le tableau 1 ci-dessous présente différents défauts possibles lors de l'étalement de la goutte de sang et leurs conséquences pour l'interprétation du frottis. Pour être maîtrisé, le geste doit donc être réalisé de nombreuses fois et de façon régulière.

Tableau 1 : Défauts possibles lors de l'étalement du frottis

Défaut de réalisation		Conséquences pour l'interprétation
Pression exercée	Trop forte	Déformation/rupture des cellules Agglutination des leucocytes en queue de frottis
	Trop faible	Frottis court, épais → Cellules superposées, non identifiables
Angle	> 45°	Frottis épais → Cellules superposées, non identifiables
	< 30°	Frottis trop fin, trop bleu
Goutte de sang	Volumineuse	Frottis épais → cellules superposées, non identifiables Amas de cellules poussés hors de la lame
Lame d'étalement	Soulevée trop tôt	Extrémité émoussée du frottis, au lieu d'être en biseau
	Poussée trop lentement	Frottis fin avec des stries, leucocytes condensés à l'extrémité : formule leucocytaire impossible

D'après Walker, 2006 ; Harvey, 2012

e. Séchage

Le frottis doit être séché immédiatement après l'étalement, par agitation à l'air de la lame. Le frottis doit être bien sec avant d'être coloré, pour éviter la création d'une zone claire au centre des hématies, qui entraîne un artefact d'hypochromie.

Un séchage trop lent entraîne une contraction des cellules, ce qui rend leur identification difficile. Il est possible de sécher la lame plus rapidement en la plaçant devant un sèche-cheveux. Cependant, la lame ne doit pas être trop proche de l'appareil ou exposée à une chaleur trop intense, au risque d'observer une fragmentation des cellules. Il est également possible d'utiliser un sèche-cheveux avec air froid. Les étalements plus épais peuvent nécessiter un temps de séchage un peu plus long. Il ne faut pas oublier d'identifier le frottis à une extrémité de la lame, à l'aide d'un crayon ou d'un stylo dont l'encre résiste à l'alcool (Harvey, 2012).

f. Fixation

Suite au séchage à l'air, le frottis doit être fixé à l'alcool, avant l'étape de la coloration. En l'absence de fixation, les cellules exploseront par choc osmotique lors du contact avec les colorants. Certaines colorations intègrent cette étape de fixation, comme le May-Grünwald-Giemsa ou les colorations rapides type RAL®, Diff Quick 555®.

g. Coloration

i. Principe de coloration

La coloration d'un frottis sanguin repose sur l'affinité acido-basique des éléments cellulaires pour les différents colorants. En routine, les frottis sanguins sont colorés par une coloration de « type Romanowsky », qui contient un mélange d'éosine (colorant acide) et de bleu de méthylène (colorant basique). Les colorations de Wright, de May-Grünwald ou de Giemsa sont de type Romanowsky et peuvent être utilisées en les combinant. Les colorations peuvent se faire manuellement, mais dans les

laboratoires qui en réalisent des dizaines par jour, la coloration automatique est devenue indispensable (Torrance, 2000).

ii. Coloration de May-Grünwald-Giemsa

La coloration automatique la plus utilisée en Europe est celle de May-Grünwald Giemsa (MGG), qui associe deux colorants différents. Le premier colorant, le May-Grünwald, contient :

- du méthanol, qui fixe les cellules ;
- du bleu de méthylène, qui colore en azur les éléments cellulaires basophiles comme le noyau, les ARN cytoplasmiques ou certaines granulations ;
- de l'éosine, rouge-orangée, qui colore les structures acidophiles (cytoplasme), appelées aussi éosinophiles.

Le second colorant, le Giemsa, contient de l'éosine pour renforcer la coloration précédente, ainsi que de l'azur de méthylène qui colore les granulations métachromatiques (mastocytes et granulations basophiles). Le MGG permet donc une bonne appréciation des détails cytoplasmiques des cellules.

iii. Coloration des réticulocytes

Les réticulocytes sont des hématies immatures : ces cellules ont perdu leur noyau mais sont plus grandes qu'une hématie mature. Leur cytoplasme apparaît bleu-violet au MGG car il contient encore de l'ARN, d'où le terme de polychromatophiles également employé.

Ils peuvent être mis en évidence à l'aide d'une coloration dite supra-vitale, qui se fixe à l'ARN des ribosomes et le fait précipiter. Comme l'ARN est un polyanion, il peut être coloré par différents colorants cationiques, tels que le bleu de crésyl brillant (BCB), le nouveau bleu de méthylène (NBM), ou encore l'acridine orange. Le BCB et le NBM sont les deux colorants les plus utilisés pour rechercher des réticulocytes. Ils doivent être mélangés au prélèvement sanguin avant la réalisation du frottis. Ils permettent notamment de caractériser une anémie, c'est-à-dire savoir si elle est régénérative ou non.

Avec le BCB, des granules bleu-violet apparaissent dans le cytoplasme des réticulocytes. La cellule doit posséder au moins trois granules pour être qualifiée de réticulocytes. En dessous de trois granules, ce sont généralement des hématies avec des artéfacts de coloration. Lorsque le stade de maturation du réticulocyte progresse, la quantité d'ARN ribosomal diminue. Il est donc possible, principalement chez le chat, de distinguer des réticulocytes avec agrégats, moins matures que des réticulocytes ponctués (Tvedten et Moritz, 2010).

iv. Kits rapides de coloration

La coloration peut être réalisée manuellement par le praticien, à l'aide d'un kit rapide disponible dans le commerce (RAL®, Diff-Quick®, Rapi-Diff®). Le Diff-Quick® est ainsi un variant rapide et simple du MGG. Après séchage à l'air, la lame est immergée cinq secondes dans chacun des trois flacons du kit (alcool fixateur, colorant éosinophile, bleu de méthylène).

Il est important de respecter le protocole correspondant au kit de coloration et de rincer délicatement la lame ensuite pour éliminer le surplus de colorant. La lame est à nouveau séchée par agitation à l'air.

Ces colorations rapides manuelles peuvent mal colorer les granulations de basophiles et de mastocytes. Les réticulocytes sont également plus difficiles à mettre en évidence avec ce type de coloration. Cependant, les colorations rapides sont de qualité suffisante pour réaliser une formule leucocytaire ou rechercher des anomalies de morphologie. Grâce à leur rapidité et leur facilité d'utilisation, ce sont les colorations les plus répandues en pratique vétérinaire courante (Walker, 2006 ; Thrall, 2012).

Il est important de respecter les temps de coloration et de changer les colorants régulièrement. Le risque est de voir apparaître des dépôts de colorants, artefacts qui peuvent être confondus avec des bactéries ou des parasites sanguins.

h. Conservation

Une fois fixés au méthanol et colorés, les frottis peuvent être conservés comme archives, sous réserve d'avoir été correctement identifiés. L'idéal est de les garder dans une boîte hermétique à l'obscurité. Il est possible de fixer une lamelle sur le frottis, à l'aide d'une résine, afin de protéger les cellules de l'exposition à l'air.

3. Observation du frottis

a. Qualité de l'étalement

Toute la goutte de sang doit avoir été étirée, sur la moitié ou aux trois-quarts de la lame. Le frottis doit être un peu distant des bords de la lame pour permettre l'observation microscopique en tout point.

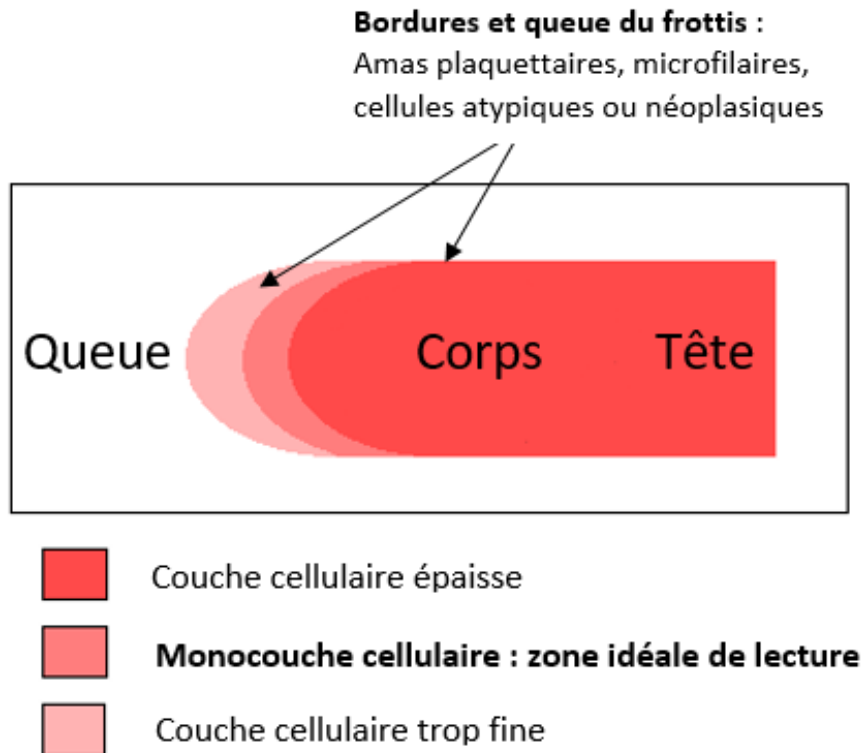
b. Qualité de la coloration

Les caractéristiques de la coloration dépendent du pH du colorant, mais également du pH de l'eau de rinçage. Si le pH est faible, que le temps de coloration est insuffisant, que les colorants sont dégradés ou que le rinçage est excessif, le frottis peut apparaître excessivement rose. A l'inverse, un pH élevé, un temps de coloration augmenté ou un rinçage insuffisant peuvent induire une teinte bleue généralisée du frottis ou à la présence de précipités de colorant (Harvey, 2012).

c. Technique de lecture

Un frottis réussi est constitué de trois zones distinctes : la tête, le corps et la queue. La tête correspond à la zone la plus épaisse, près du lieu de dépôt de la goutte de sang, tandis que la queue est l'extrémité en fuseau du frottis. La monocouche cellulaire est située dans la partie distale du frottis, à la jonction entre le corps et la queue. Les hématies y sont proches, environ la moitié des cellules se touchent les unes les autres. C'est la zone limitée du frottis où la morphologie cellulaire est la plus représentative. La figure 4 est un schéma qui représente ces zones du frottis sanguin.

Figure 4 : Schéma des différentes zones d'un frottis sanguin



L'examen du frottis commence à l'objectif x10 ou x20, de la tête vers la queue. Cette étape permet d'évaluer la coloration, l'épaisseur cellulaire et sa diminution progressive. La zone de la monocouche doit être identifiée avec cet objectif, elle sera la zone de lecture par la suite. L'examen des bordures et de l'extrémité en fuseau peut révéler la présence d'amas plaquettaires, de microfilaires ou de cellules atypiques de grande taille (Torrance, 2000 ; Cowell, 2006).

L'examen est alors poursuivi à l'objectif x40 ou x50 avec ou sans huile à immersion. Cela permet de vérifier la morphologie cellulaire et de rechercher des signes de régénération en cas d'anémie. Les types cellulaires peuvent être identifiés et quantifiés de façon précise à ce grossissement. Les détails morphologiques intracellulaires, comme des mycoplasmes sur les hématies ou les granulations toxiques dans le cytoplasme d'un granulocyte neutrophile, peuvent nécessiter de passer à l'objectif x100 avec huile à immersion. La morphologie et la quantification plaquettaire doit être réalisée à l'objectif x100 (Torrance, 2000 ; Cowell, 2006).

d. Formule leucocytaire manuelle

La zone de comptage correspond à la monocouche cellulaire identifiée à l'objectif x10. L'observateur réalise une formule leucocytaire manuelle, qui permet de contrôler les valeurs leucocytaires fournies par l'automate lors de la NFS.

Cette formule est obtenue à l'objectif x40, x50 ou x100 avec huile à immersion, en balayant en créneau la couche monocellulaire. Il faut compter au moins 100 leucocytes consécutifs, qui sont ensuite répartis dans leur sous-population leucocytaire. Ces populations sont les suivantes :

- Granulocytes neutrophiles,
- Granulocytes neutrophiles hyposegmentés (band cells),
- Granulocytes éosinophiles,
- Granulocytes basophiles
- Lymphocytes,
- Monocytes.

Il est possible d'ajouter une catégorie « cellules anormales ». Ensuite, on établit les quantités absolues des différents leucocytes en multipliant les différents pourcentages par le nombre total de leucocytes, fourni par la NFS.

II. Cellules de la lignée érythrocytaire

Les hématies, aussi appelées globules rouges ou érythrocytes, sont les cellules sanguines qui transportent le dioxygène et le dioxyde de carbone, grâce à l'hémoglobine qu'elles contiennent. Parmi leurs précurseurs figurent les érythroblastes, cellules nucléées rares sur un frottis sanguin, et les réticulocytes fréquemment observés.

A. Morphologie normale

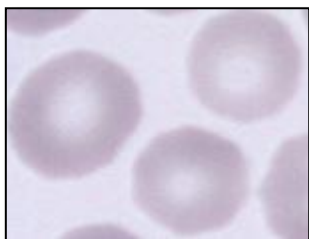
1. Hématies

La morphologie des hématies est à évaluer systématiquement lors de l'examen d'un frottis sanguin. L'observateur doit rechercher toute modification de forme, de taille ou de couleur de ces cellules, notamment lors de la caractérisation d'une anémie. Cet aspect des hématies s'évalue principalement dans la zone de la monocouche cellulaire, où la densité est idéale pour l'observation des cellules. C'est également dans cette zone que les hématies ont subi le moins de modifications lors de la préparation. La majorité des anomalies des hématies sont observables à l'objectif x50, certaines comme les inclusions nécessitent l'objectif x 100 avec huile à immersion.

a. Couleur

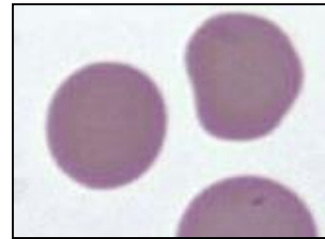
Chez la plupart des Mammifères, les hématies ont une forme de disque biconcave et elles sont anucléées. Ceci explique leur pâleur centrale lors de l'observation microscopique, puisque la quantité d'hémoglobine est plus faible à cet endroit. Cette pâleur centrale, qui occupe un tiers de la cellule, est bien visible sur des hématies de chien (figure 5). Lorsque les hématies sont de petite taille, comme chez le chat (figure 6), les ruminants (figure 7) ou le cheval (figure 8), la concavité est faible : les hématies de ces espèces n'ont pas ou peu de pâleur centrale (Walker, 2006 ; Thrall, 2012).

[Figure 5 : Hématies de chien](#)



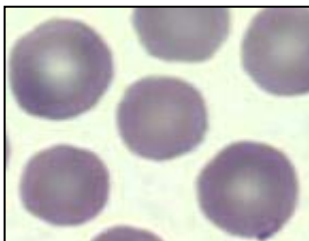
MGG, obj x100

[Figure 6 : Hématies de chat](#)



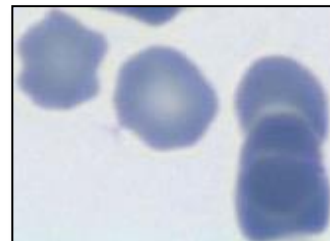
MGG, obj x100

[Figure 7 : Hématies de bovin](#)



MGG, obj x100

[Figure 8 : Hématies de cheval](#)



MGG obj x100

b. Taille

Les hématies sont des cellules de petite taille, dont le diamètre varie selon l'espèce. Le tableau 2 présente la taille et l'intensité de la pâleur centrale des hématies des espèces domestiques les plus fréquentes.

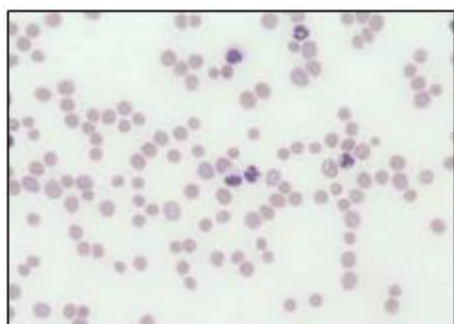
Tableau 2 : Caractéristiques de taille et de colorabilité des hématies des principales espèces domestiques

Espèce	Diamètre (µm)	Pâleur centrale
Chien	7,0	+++
Chat	5,8	+
Cheval	5,7	-
Bovin	5,5	+
Ovin	4,5	+
Caprin	3,2	-
Porc	6,0	+/-

D'après Thrall, 2012

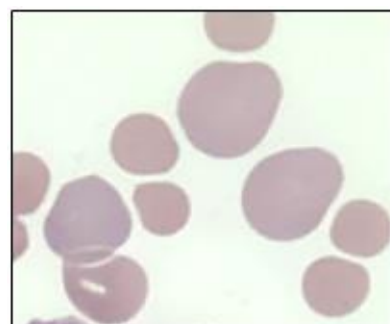
Toute variation de taille des hématies est une anisocytose. On parle de macrocytose lorsque la taille des cellules est augmentée, et de microcytose lorsqu'elle est diminuée. Certaines espèces, notamment les rongeurs, les bovins et les caprins, présentent une anisocytose modérée physiologique. La présence de nombreuses hématies immatures, comme sur les figures 9 et 10, entraîne une anisocytose érythrocytaire sévère, qui peut être repérée par un observateur expérimenté dès l'objectif x10. Les hématies immatures sont en effet de taille supérieure à celle des hématies matures chez les Mammifères.

Figure 9 : Anisocytose érythrocytaire



Frottis d'un chien présentant une anémie hémolytique auto-immune MGG, obj x10

Figure 10 : Anisocytose érythrocytaire



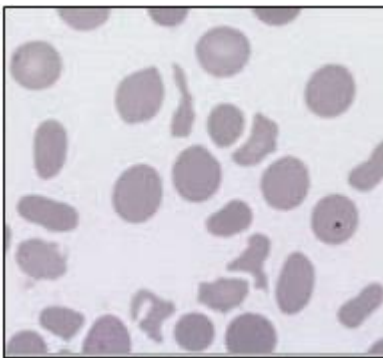
Chien, MGG, obj 50

c. Forme

La forme de disque biconcave est conservée dans la plupart des espèces de mammifères, sauf chez les camélidés (chameau, lama, alpaga) dont les hématies sont biconvexes et de forme ovale, comme chez les oiseaux et les reptiles. De plus, les hématies de chat ont une forme plus variable que celles des chiens.

Une hématie de forme anormale est un poïkilocyte. Toutes les modifications possibles de forme sont regroupées sous le terme de poïkilocytose, qui est donc un terme très peu spécifique. La figure 11 présente un cas sévère de poïkilocytose chez un chat. La poïkilocytose peut être très diverse, comme sur la figure 12, avec de nombreux acanthocytes, mais également des schizocytes, des elliptocytes ou des dacryocytes (détaillés ci-dessous).

[Figure 11 : Poïkilocytose sévère](#)



Chat, MGG, obj x50

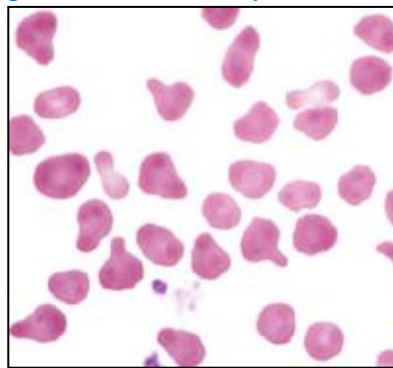
[Figure 12 : Poïkilocytose diverse](#)



Chat, MGG, obj x50

La poïkilocytose peut être rencontrée à l'état physiologique chez certaines espèces. Elle est fréquente chez les jeunes bovins et considérée comme physiologique chez les caprins. Ainsi les chevreaux de moins de trois mois et certains caprins adultes, notamment les chèvres Angoras, présentent une poïkilocytose marquée (figure 13). Elle se traduit par la présence d'hématies triangulaires, fusiformes, oblongues, en forme de poire ou d'allumette (Barger, 2010 ; Harvey, 2012).

[Figure 13 : Poïkilocytes de caprin](#)



Coloration de Wright-Giemsa, chèvre en bonne santé (Source : Harvey, 2012)

Chez certaines espèces de cerfs, d'antilopes, de chèvres et de moutons, on peut observer *in vitro* des drépanocytes, qui sont des hématies en forme de faucille. Cette morphologie est due à un type d'hémoglobine particulier, qui polymérise et devient insoluble sous forme oxydée. Ces hématies falciformes peuvent donc s'observer lorsque l'hémoglobine est exposée longtemps à une pression partielle en

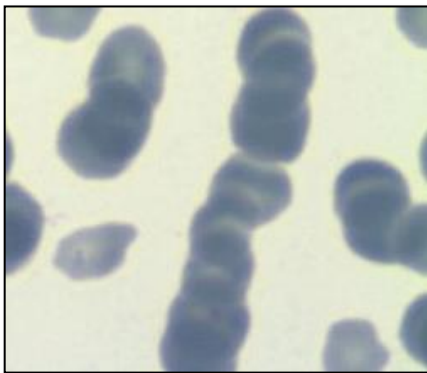
oxygène élevée, lors du mélange d'échantillons sanguins ou de la préparation du frottis (Barger, 2010).

d. Disposition des hématies

i. Rouleaux

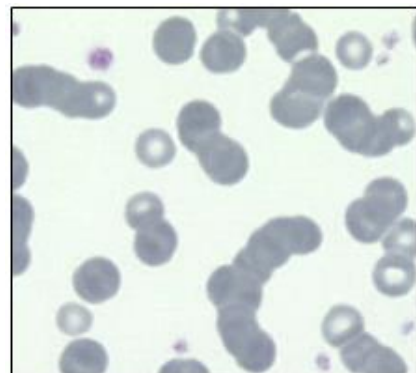
Observés dans la zone de la monocouche cellulaire, les hématies sont individualisées dans la plupart des espèces. Cependant, certaines espèces présentent de façon physiologique des hématies disposées en rouleaux, qui ont l'aspect d'une pile de pièces. Ces rouleaux sont fréquents chez le cheval (figure 14), le chat (figure 15) et le porc. La présence de rouleaux dans une espèce autre que celles citées ici doit être notée comme une anomalie (Barger, 2010).

[Figure 15](#) : Rouleaux de cheval



MGG, obj x100

[Figure 14](#) : Rouleaux de chat



MGG, obj x50

La fréquence de formation des rouleaux augmente lorsque le taux de protéines plasmatiques est élevé. Une augmentation des globulines, telles que le fibrinogène, l'haptoglobine ou les immunoglobulines lors d'une inflammation par exemple, favorise la formation de rouleaux. Un désordre lymphoprolifératif avec production augmentée d'immunoglobulines peut également favoriser l'apparition de rouleaux (Harvey, 2012).

ii. Agglutination

Les rouleaux doivent être différenciés de l'agglutination, qui est une agrégation anormale en grappe des hématies. L'agglutination est causée par la création de liaisons entre des immunoglobulines situées à la surface des hématies. Elle est pathologique et peut être observée en cas de forme particulièrement grave d'Anémie Hémolytique à Médiation Immune (AHMI) ou suite à une transfusion incompatible. En cas de doute, un test rapide est disponible (figure 16) : les rouleaux peuvent être dissociés en diluant un peu de sang avec une goutte d'une solution saline, ce qui n'est pas possible en cas d'agglutination. En cas d'agglutination sévère, elle peut être observée lors de la réalisation du frottis ou sur les parois d'un tube à EDTA (Barger, 2010 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

[Figure 16](#) : Agglutination confirmée
(test à la solution saline)

Goutte de sang mélangée avec quelques gouttes de NaCl, observation entre lame et lamelle, obj x40.

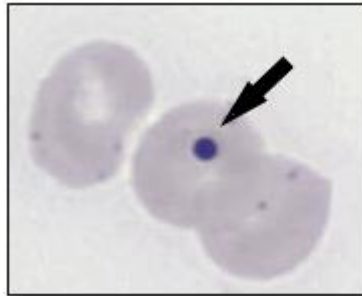


e. Inclusions physiologiques

i. Corps de Howell-Jolly

Les corps de Howell-Jolly sont de « petites sphères » bleu foncé de taille variable, généralement uniques, situées dans le cytoplasme des certaines hématies (figure 17). Aussi appelé micro-noyaux, ce sont des reliquats de noyau, issus de la fragmentation du noyau ou de la rupture de sa membrane dans la moelle osseuse. Lorsque le noyau est expulsé de l'hématie, ces fragments de noyau persistent dans le cytoplasme.

[Figure 17](#) : Corps de Howell-Jolly



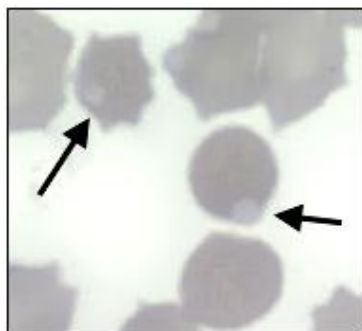
Chien, MGG, obj x100

Les corps de Howell-Jolly sont normalement éliminés lors du passage du sang dans la rate. Une faible proportion d'hématies (moins de 1%) peut cependant contenir des corps de Howell-Jolly de façon physiologique sur un frottis de chien, de chat ou de cheval. Un taux élevé de corps de Howell-Jolly signe un état pathologique, décrit ci-dessous dans la partie « inclusions pathologiques » (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

ii. Corps de Heinz

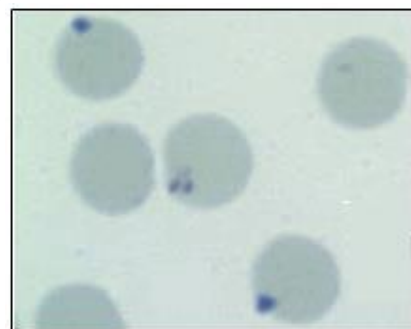
Les corps de Heinz résultent de la dénaturation oxydative de l'hémoglobine. Au MGG, ils apparaissent sous forme de petites structures pâles de 0,5 à 1µm de diamètre, parfois davantage. Ils sont situés sous la membrane cellulaire des hématies et peuvent donner l'impression de faire protrusion hors de la cellule (figure 18). Ils sont généralement uniques et de grande taille chez le chat, tandis qu'ils sont multiples et de petite taille chez le chien. Leur observation est simplifiée avec une coloration au BCB : ils apparaissent alors comme des structures bleues (figure 19). On estime que 1 à 2 % des hématies d'un chat sain comportent des corps de Heinz (jusqu'à 5 % selon Harvey, 2012), en raison de la sensibilité particulière de leur hémoglobine à l'oxydation. Les chats en bonne santé ont de très petits corps de Heinz, contrairement aux situations pathologiques (Walker, 2006 ; Thrall, 2012).

[Figure 18](#) : Corps de Heinz



Chat, MGG, obj x100

[Figure 19](#) : Corps de Heinz au BCB



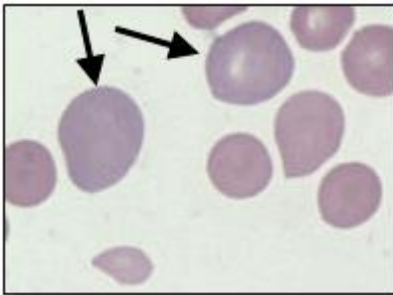
Corps de Heinz colorés en bleu par le BCB (Chat, obj x100)

2. Hématies polychromatophiles

Les hématies polychromatophiles, aussi appelés réticulocytes, sont de jeunes hématies immatures. Elles ont un aspect bleu-gris et sont de plus grande taille que les hématies matures (environ 8 μm chez le chien, soit 1 μm de plus qu'une hématie mature). On parle dans ce cas de polychromasie ou polychromatophilie. Ces cellules ont expulsé leur noyau mais possèdent encore des organites (ribosomes, mitochondries) et de l'ARN qui fixent le colorant basophile (figure 20). Elles peuvent représenter jusqu'à 0,5 % chez le chat et 1 % chez le chien des hématies circulantes, de façon physiologique.

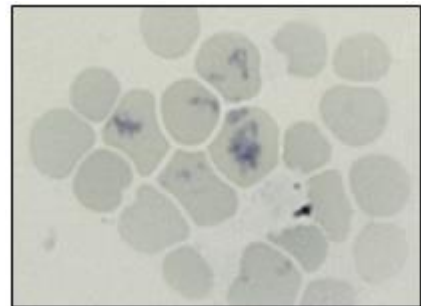
Colorées au Bleu de Crésyl Brillant, les hématies polychromatophiles sont plus faciles à identifier. En effet, leurs organites précipitent en granules bleu foncé et l'ARN forme un réseau d'où leur autre nom de réticulocyte (figure 21). Les hématies matures sont dépourvues de ces granules et apparaissent incolores au BCB.

Figure 20 : Réticulocytes parmi des hématies matures



Chien, MGG, obj x50

Figure 21 : Réticulocytes colorés au BCB



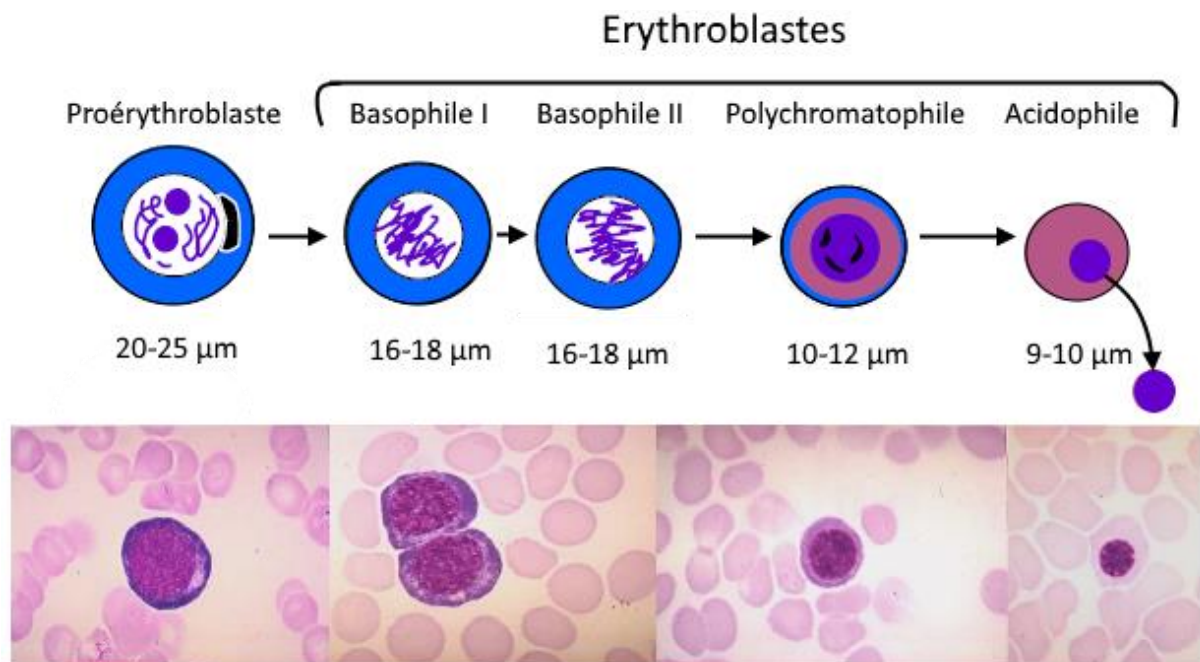
Chien, BCB, obj x50

Les hématies polychromatophiles sont libérées de façon précoce dans la circulation sanguine en cas d'anémie régénérative (pertes sanguines, hémolyse). Seul le cheval ne présente jamais de réticulocytes, même lors d'hémorragie. En cas d'anémie non régénérative, comme une hypoplasie ou une anaplasie médullaire, le nombre d'hématies polychromatophiles ne sera pas augmenté, il peut même être diminué (Thrall, 2012).

3. Erythroblastes

Appelées aussi métarubricytes par les anglo-saxons, les érythroblastes sont des précurseurs érythrocytaires n'ayant pas encore expulsé leur noyau. Les érythroblastes sont qualifiés de basophiles, polychromatophiles ou acidophiles, selon l'affinité de leur cytoplasme pour les colorants (figure 22). L'érythroblaste acidophile est le dernier précurseur avant le réticulocyte, puis l'hématie mature (Cordonnier, 2015).

Figure 22 : Schémas et photographies des érythroblastes



D'après Cordonnier (2015)

Les érythroblastes sont rares sur les frottis sanguins de Mammifères, bien qu'ils puissent être parfois observés sur des frottis de chien ou de chat en bonne santé. La présence d'une érythroblastose est souvent associée à une anémie régénérative (Harvey, 2012). Tout comme les réticulocytes, les érythroblastes sont rarement observés chez les chevaux, même lors d'anémie régénérative.

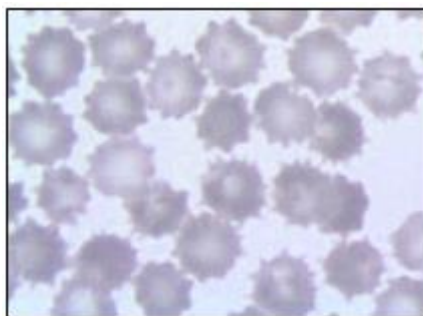
B. Artefacts

La plupart des artefacts de morphologie et de coloration sont reconnaissables par leur apparence ou par leur distribution au sein du frottis. A l'examen de plusieurs frottis d'un même prélèvement, les altérations détectées sur certaines lames uniquement sont probablement des artefacts (Walker, 2006).

1. Echinocytes : hématies crénelées

Les échinocytes sont des hématies présentant de petites projections membranaires, des spicules, réparties uniformément à leur surface et de taille constante (figure 23). Les spicules peuvent être pointus ou émoussés. La présence d'échinocytes est habituellement un artefact, qui résulte d'un excès relatif d'anticoagulant dans l'échantillon ou d'un séchage trop lent. Un stockage prolongé du sang avant préparation du frottis (ex : plus de deux heures à 4°C ou à température ambiante) peut également favoriser la formation d'échinocytes. Ils sont donc non significatifs sur la majorité des frottis. Ces artefacts sont particulièrement communs sur les frottis de sang de chat et de porc. Leur apparence peut dépendre de l'épaisseur du frottis (Walker, 2006 ; Harvey 2012 ; Lallemand et Rannou, 2014).

[Figure 23 : Echinocytes de chien](#)



MGG, obj x 50

2. Torocytes

Les torocytes sont des hématies avec une pâleur centrale augmentée de façon artificielle. L'anneau d'hémoglobine en périphérie est cependant d'épaisseur normale (figure 24). Ces cellules sont à distinguer d'une hypochromie pathologique, dont l'anneau de cytoplasme est très fin. Les torocytes peuvent également sembler plus petits que les hématies normales. Ils sont notamment formés par un mauvais étalement du frottis (Reagan *et al.*, 2008 ; Barger, 2010).

[Figure 24 : Photographie de torocytes](#)



Chien, Wright-Giemsa, obj x100. Photo : Reagan *et al.*, 2008

3. Artéfacts liés au séchage

Des artéfacts de séchage se forment si le frottis n'est pas complètement séché à l'air avant la coloration. Ces artéfacts comprennent les échinocytes évoqués précédemment. Les hématies peuvent aussi présenter des « perforations » rondes ou incurvées, qui sont des structures réfringentes ressemblant à des vacuoles (figure 25). Ces vacuoles ne doivent pas être confondues avec des parasites des hématies. Le colorant peut se concentrer autour de zones transparentes ou précipiter à l'arrière-plan. Enfin, des zones dépourvues de cellules peuvent être observées, notamment si la lame n'a pas été dégraissée (Walker, 2006).

Figure 25 : Inclusions réfringentes artéfactuelles



Artéfacts de séchage dans des hématies de cheval disposées en rouleaux Wright-Giemsa, obj x100 (Photo : Harvey, 2012)

4. Précipités de colorants

Des précipités de colorants peuvent se former lorsque les solutions de colorants ont besoin d'être filtrées, que le temps de coloration est excessif ou que le rinçage est insuffisant. Ces précipités sont à distinguer de parasites intracellulaires (Harvey, 2012).

C. Aspects pathologiques

1. Modifications du nombre d'hématies

a. Polycythémie

La polycythémie, aussi appelée polyglobulie, est une augmentation de la masse d'hématies circulantes. Elle s'accompagne d'une augmentation du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite. Selon la pathogénie, on distingue une polycythémie relative de la polycythémie absolue.

La forme la plus fréquente chez les animaux domestiques est la polycythémie relative. Dans ce cas, l'augmentation de l'hématocrite est due généralement à une diminution du volume plasmatique et à une hémococoncentration, suite à la perte de fluides. La principale cause de polycythémie relative est donc la déshydratation sévère, en cas de vomissements, de diarrhée ou de polyurie sans polydipsie associée. La seconde cause de polycythémie relative est la contraction splénique, présente chez le chien et le cheval, plus rarement chez le chat, en cas d'excitation ou d'anxiété. Sous l'effet des catécholamines, la rate se contracte et libère de nombreuses hématies dans la circulation sanguine, responsable d'une polycythémie modérée transitoire sans signes cliniques associés (Walker, 2006 ; Randolph, 2010).

La polycythémie absolue est dite primaire lorsqu'elle est due à une prolifération autonome des précurseurs des hématies en dehors de toute stimulation par l'érythropoïétine (EPO). Cette anomalie myéloproliférative chronique, appelée polycythémie vraie, est rare chez le chien et le chat. Les individus atteints sont d'âge moyen (6 ou 7 ans). Chez le chat, les mâles sont davantage touchés que les femelles, tandis que c'est l'inverse dans l'espèce canine. Le diagnostic est généralement un diagnostic d'exclusion, une fois les autres causes de polycythémie écartées (Randolph, 2010).

La polycythémie absolue secondaire est la conséquence d'une augmentation de la production d'EPO. Si la pression partielle en dioxygène est diminuée, l'augmentation de la sécrétion d'EPO est une réponse à l'hypoxie systémique. La polycythémie est alors une réponse compensatoire appropriée de l'organisme. C'est le cas chez des individus vivant en altitude, ou présentant une affection pulmonaire chronique, une cardiopathie ou un shunt cardiaque droite-gauche. Si la sécrétion d'EPO est augmentée alors que la pression partielle en dioxygène est normale, la polycythémie qui en résulte est dite inappropriée. Elle est due à la présence de tumeurs, souvent rénales, sécrétrices d'EPO, ou à une affection rénale comme une pyélonéphrite, qui induit une hypoxie locale d'où la sécrétion d'EPO. Enfin, des troubles hormonaux comme une maladie de Cushing, une hyperthyroïdie, une corticothérapie ou l'administration d'androgènes peuvent induire une stimulation de l'érythropoïèse (Randolph, 2010 ; Hébert et Bulliot, 2014).

b. Anémie

Une anémie est une diminution de la concentration d'hémoglobine sanguine, associée à une diminution de l'hématocrite et de la numération globulaire. L'anémie est souvent suspectée grâce aux signes cliniques de l'animal, et est confirmée par la numération sanguine. Chez le chien, l'anémie est définie par une concentration d'hémoglobine inférieure à 10 g/dl, et chez le chat une concentration inférieure à 8 g/dl. Le frottis permet caractériser l'anémie et éventuellement d'en trouver la cause.

i. Anémie régénérative

Une anémie est dite à caractère régénératif si le nombre de réticulocytes est augmenté. Le nombre de réticulocytes utilisé comme seuil de régénération est différent selon l'espèce considérée. Chez le chien, Tvedten définit différents seuils de régénération, présentés dans le tableau 3. L'anémie est qualifiée d'hyporégénérative si le nombre de réticulocytes est inférieur à 60 000/mm³. Il est préférable d'utiliser les valeurs absolues de réticulocytes pour déterminer le caractère régénératif.

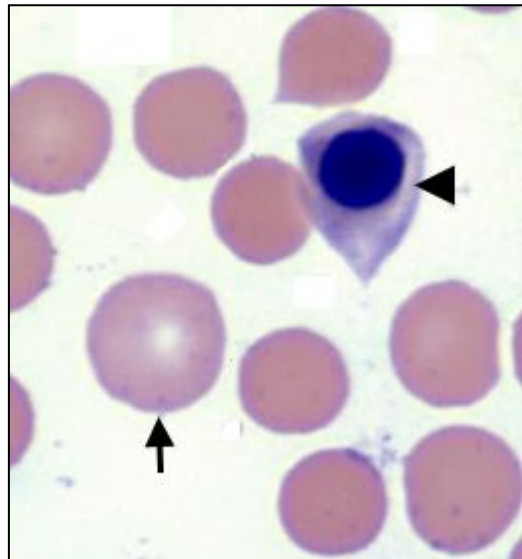
Tableau 3 : Seuils de régénération lors d'anémie chez le chien

Régénération	Valeur relative (%)	Valeur absolue
Absente	1	60 000/mm ³
Faible	1-4	150 000/mm ³
Modérée	5-20	300 000/mm ³
Forte	21-50	> 500 000/mm ³

D'après Tvedten, 2010

Les signes de régénération à rechercher sur le frottis sont une polychromatophilie, une anisocytose, la présence de corps de Howell-Jolly et d'érythroblastes (des précurseurs d'hématies qui ont encore un noyau), comme sur la figure 26. Un délai de quatre à cinq jours est nécessaire à la moelle osseuse avant qu'elle libère des réticulocytes dans le sang. Il ne faut donc pas conclure à une anémie arégénérative lorsqu'il n'y a pas de signe de régénération et que l'anémie est récente. Un hémogramme devra être réalisé quelques jours plus tard pour réévaluer l'anémie (Hébert et Bulliot, 2014).

Figure 26 : Photographie d'érythroblaste acidophile et de réticulocyte



L'érythroblaste acidophile est pointé par la tête de flèche, le réticulocyte est pointé par la flèche. Frottis sanguin de chien, MGG, obj x100.

Une anémie régénérative est induite par une fuite d'hématies hors de l'organisme lors de pertes sanguines ou par la lyse des hématies (anémie hémolytique). Les causes de pertes sanguines sont diverses :

- un traumatisme,
- une intervention chirurgicale,
- une coagulopathie : par thrombopénie, thrombopathie, maladie de von Willebrand, hémophilie, intoxication aux anticoagulants, Coagulation Intravasculaire Disséminée (CIVD),
- par spoliation parasitaire,
- par saignements chroniques (lors d'ulcère ou de tumeur gastro-intestinales par exemple).

En cas d'anémie hémolytique, l'hémolyse peut être à médiation immune (immunoglobulines G ou M, fraction du complément, réaction transfusionnelle), congénitale, consécutive à des intoxications (plomb, oignon, paracétamol, propylène glycol, etc.), d'origine parasitaire (mycoplasmosse, piroplasmosse, ehrlichiose) ou mécanique (micro- ou macro-angiopathie) (Tvedten, 2010 ; Hébert et Bulliot, 2014).

ii. Anémie arégénérative ou hyporégénérative

Les anémies hypo- ou arégénératives sont causées par des affections médullaires ou par des affections extramédullaires. Les affections de la moelle osseuse comprennent la myélodysplasie (leucémies, myélome multiple, lymphome, etc.), la myélofibrose, les myélodysplasies et les effets toxiques de certaines molécules

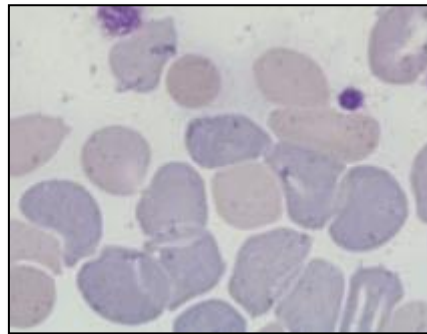
(œstrogènes, chimiothérapie, griséofulvine) ou de la radiothérapie. Les affections extramédullaires peuvent être systémiques comme l'insuffisance rénale ou hépatique, un état inflammatoire chronique, une parvovirose, une hypothyroïdie, un hypocorticisme ou le virus de la leucose féline (FeLV). Les autres affections extramédullaires sont d'origine nutritionnelle : l'anémie par carence en fer (la plus fréquente), par carence en vitamine B12 ou en cas de régime pauvre en protéines. (Hébert et Bulliot, 2014)

2. Modifications de la couleur des hématies

a. Polychromatophilie

La polychromatophilie, ou polychromasie, est définie par une variation de la colorabilité des hématies qui est le reflet de la présence d'un grand nombre d'hématies immatures, les réticulocytes, sur un frottis coloré par une coloration classique de type Romanowsky. Ces cellules immatures apparaissent en effet comme des cellules polychromatophiles, à l'aspect bleu-gris (figure 27). La présence ou l'absence de ces cellules est fondamentale à rechercher pour caractériser une anémie. (Barger, 2010)

[Figure 27](#) : Photographie de polychromatophiles



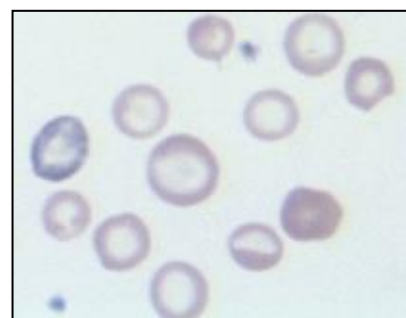
Frottis de chien, MGG, obj x50

b. Hypochromie

L'hypochromie caractérise les hématies qui ont une pâleur centrale importante et une fine bande périphérique de cytoplasme, d'où un aspect en anneau et leur nom d'annulocytes (figure 28). Ces hématies sont généralement observées chez les patients présentant une grave carence en fer. Comme le fer est nécessaire à la synthèse de l'hème de l'hémoglobine, la concentration des hématies en hémoglobine est diminuée. Une carence chronique en cuivre ou une carence en vitamine B6 peuvent également être à l'origine d'une hypochromie. L'hypochromie est à différencier des torocytes, qui sont des artefacts (Barger, 2010).

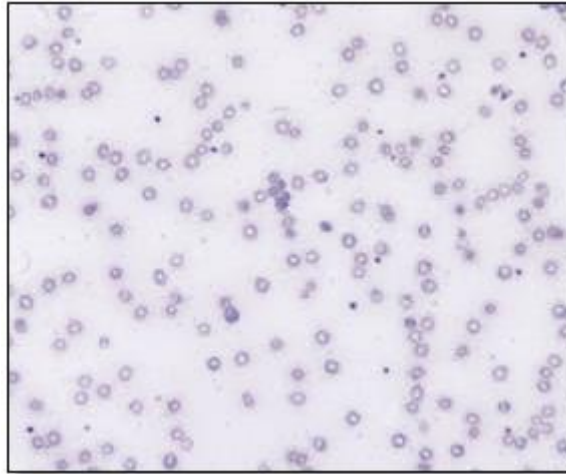
[Figure 28](#) : Annulocytes et hypochromie sévère

Frottis sanguin de chien, MGG, obj x50



Les hématies d'un chien, d'un ruminant ou d'un porc présentant une anémie par carence en fer auront une hypochromie marquée, visible dès l'objectif x10 comme sur la figure 29. En revanche, chez le chat et le cheval, l'hypochromie est légère et généralement non observée en cas d'anémie par carence en fer (Harvey, 2012).

Figure 29 : Hypochromie sévère



Frottis sanguin de chien, MGG, obj x10

3. Modifications de la taille des hématies

a. Macrocytose

Une macrocytose correspond à une augmentation de la taille moyenne des cellules. La présence de réticulocytes dans la circulation sanguine, même physiologique, entraîne une macrocytose, car ces cellules immatures sont plus grandes que les hématies matures. Lors d'un processus régénératif, le nombre de réticulocytes augmente et peut entraîner une macrocytose significative.

D'autres causes de macrocytose existent, comme une infection chez le chat par le virus de la leucose féline, les syndromes myélodysplasiques ainsi que certaines causes héréditaires ou congénitales (Barger, 2010).

b. Microcytose

La microcytose est définie par l'observation d'hématies de faible diamètre. Elle n'est pas toujours corrélée à un VGM diminué. Ainsi, les sphérocytes apparaissent plus petits en raison de leur forme sphérique, mais leur VGM est compris en général dans les valeurs usuelles (Thrall, 2012).

La microcytose peut être observée dans des circonstances pathologiques. L'une d'elles est la carence en fer : la faible teneur en hémoglobine entraîne une division supplémentaire au cours de la différenciation cellulaire, pour atteindre une concentration normale. Les hématies sont alors hypochromes et microcytaires. Il existe également des microcytose héréditaires chez l'Akita et le Shiba Inu, et familiales chez le Springer Anglais (Barger, 2010).

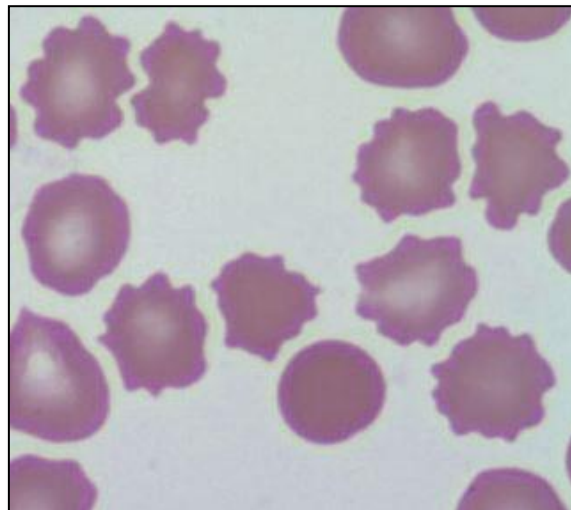
4. Modifications de la forme

Regroupées sous le terme de poïkilocytose, les modifications de forme des hématies sont nombreuses. Tout changement de la membrane cytoplasmique, de l'état de l'hémoglobine ou de l'organisation de la moelle osseuse peut conduire à des modifications de la morphologie des hématies. Le plus important n'est pas de quantifier chaque forme observée mais davantage de trouver la cause de ces modifications de forme des hématies.

a. Acanthocytes

Les acanthocytes présentent des spicules à leur surface, des projections de membrane, espacées de façon irrégulière et dont le nombre varie de 2 à 20 par cellule (figure 30). Les acanthocytes se forment lorsque la membrane cellulaire contient un excès de cholestérol par rapport aux phospholipides. Cette modification des lipides membranaires est due à un taux de cholestérol sanguin élevé ou à une composition anormale des lipoprotéines plasmatiques. Chez le chien, la présence d'acanthocytes est associée à une atteinte hépatique, un shunt portosystémique ou une alimentation riche en cholestérol. Chez le chat, les acanthocytes sont les poïkilocytes les plus fréquents en cas d'atteinte hépatique.

[Figure 30](#) : Photographie d'acanthocytes



Nombreux acanthocytes sur un frottis sanguin de chien (MGG, obj x100)

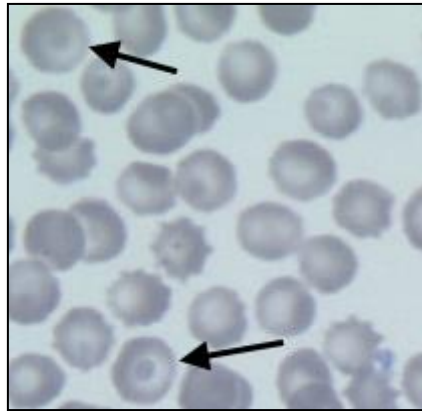
Certaines études envisagent la formation d'acanthocytes suite à la fragmentation des hématies, en cas d'hémangiosarcome, de glomérulonéphrite, de lymphome ou de CIVD (Barger, 2010 ; Tant *et al.*, cités par Harvey, 2012). La présence de nombreux acanthocytes peut être physiologique chez les jeunes caprins et parfois chez les jeunes bovins. L'acanthocytose des jeunes caprins s'explique par la présence d'hémoglobine de type C (Harvey, 2012).

b. Codocytes

Les codocytes sont des hématies qui, observées en trois dimensions, ont une forme de cloche. Sur un frottis, ces cellules ont un aspect de « cible » : elles ont un centre dense en hémoglobine, entouré d'une zone claire et d'un anneau d'hémoglobine périphérique (figure 31). Comme les acanthocytes, les codocytes ont un taux élevé de cholestérol dans leur membrane. Les codocytes sont observés chez

le chien en cas d'anémie par carence en fer, d'atteinte hépatique avec cholestase ou suite à une splénectomie. Ils sont fréquents en cas d'anémie régénérative (Torrance, 2000 ; Barger, 2010).

[Figure 31](#) : Photographie de codocytes

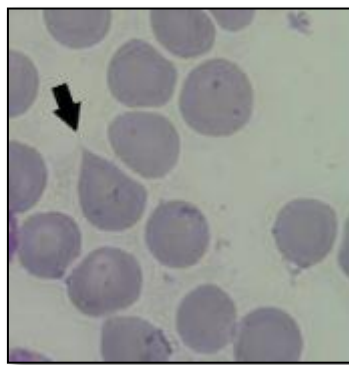


Codocytes pointés par les flèches. Frottis sanguin de chien, MGG, obj x50

c. Dacryocytes

Les dacryocytes sont des hématies en forme de larme (figure 32). Elles se forment lorsque la membrane cellulaire est endommagée et déformée lors du passage de la cellule dans la moelle osseuse ou dans les sinusoides spléniques. La présence de dacryocytes est rare en médecine vétérinaire. Elle est rapportée chez le chien, dans des cas de myéloprolifération ou d'hyperactivité de la rate (Barger, 2010).

[Figure 32](#) : Photographie d'un dacryocyte

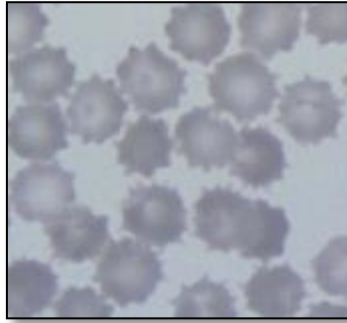


Le dacryocyte est pointé par la flèche sur ce frottis sanguin de chien (MGG, obj x50).

d. Echinocytes

Les échinocytes sont des hématies avec de nombreuses petites projections membranaires, réparties de façon régulière autour de la cellule (figure 33). Généralement d'origine artéfactuelle, ils se forment lorsque la couche lipidique externe de la membrane occupe plus de surface que la couche lipidique interne. La formation des échinocytes est favorisée par la présence d'acides gras, de molécules amphotères, l'augmentation du calcium intracellulaire, l'augmentation du pH ou la déshydratation des hématies.

[Figure 33](#) : Photographie d'échinocytes



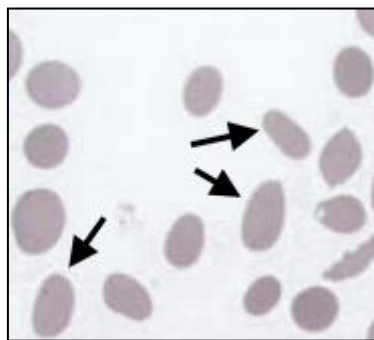
Frottis sanguin de chien, MGG, obj x50

La présence d'échinocytes a été rapportée chez des chiens présentant une glomérulonéphrite, une néoplasie telle qu'un lymphome ou un hémangiosarcome, une anémie hémolytique à médiation immune, une déficience en pyruvate kinase, suite à une envenimation par morsure de serpent ou une administration chronique de doxorubicine. La formation d'échinocytes chez le chat est associée à de nombreuses maladies, mais elle a été spécifiquement observée en cas d'administration chronique de doxorubicine. Chez le cheval, les échinocytes sont associés à l'hyponatrémie et l'hypochlorémie, notamment en cas de coliques, de diarrhée, de traitement au furosémide ou d'exercice d'endurance (Barger, 2010 ; Harvey, 2012).

e. Elliptocytes

Les elliptocytes, aussi appelés ovalocytes, sont des hématies de forme ovale (figure 34). Physiologiques chez les Camélidés, ils sont rarement observés dans les autres espèces. Les elliptocytes peuvent être à bords lisses ou avec des spicules. La présence d'elliptocytes a été décrite chez un chien ayant une déficience de la protéine de la bande 4.1 (protéine membranaire de l'hématie), mais également en cas de fibrose de la moelle, de glomérulonéphrite ou de myélodysplasie. Chez le chat, des elliptocytes peuvent être observés en cas de troubles de myéloprolifération, d'atteinte hépatique ou d'administration chronique de doxorubicine (Barger, 2010).

[Figure 34](#) : Photographie d'elliptocytes

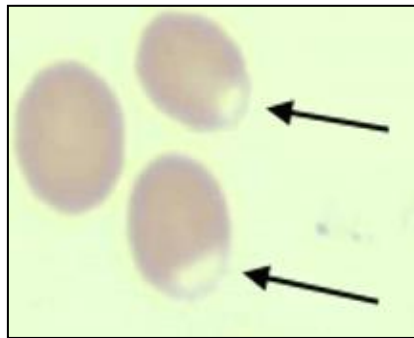


Elliptocytes sur le frottis sanguin d'un chat présentant une poïkilocytose sévère, MGG, obj x50

f. Eccentrocytes

Aussi appelés « demi-fantômes », les eccentrocytes sont des hématies dont l'hémoglobine est concentrée dans une partie de la cellule, laissant une zone pâle dépourvue d'hémoglobine (figure 35). Suite à des dommages oxydatifs, les membranes opposées d'une extrémité de la cellule fusionnent. Ceci a pour effet de repousser l'hémoglobine de l'autre côté de la cellule. Observée en deux dimensions sur le frottis, la membrane cellulaire fusionnée apparaît comme un demi-cercle pâle. De l'autre côté de la cellule, l'hémoglobine paraît excentrée et plus foncée qu'habituellement. Les eccentrocytes peuvent être associés à la présence de corps de Heinz (Powell et Torrance, 2012).

[Figure 35](#) : Photographie d'eccentrocytes



Frottis sanguin de chien, MGG, obj x 100

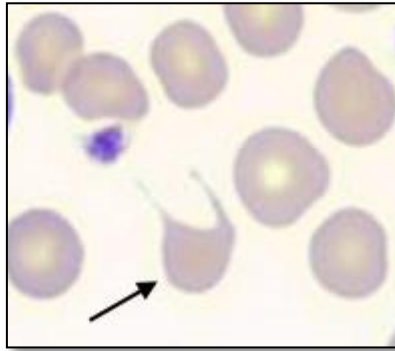
L'observation des eccentrocytes est facilitée par une coloration au Bleu de Crésyl Brillant. Chez le chien, les eccentrocytes sont des indicateurs de dommages oxydatifs, après exposition à des substances oxydatives comme l'oignon, l'ail, la vitamine K ou le paracétamol. Les chats sont plus sensibles aux dommages oxydatifs mais ceux-ci se manifestent davantage par la formation de corps de Heinz que par celles d'eccentrocytes. Chez le cheval, des eccentrocytes ont été décrits suite à des intoxications aux feuilles d'Erable rouge, ainsi qu'en cas de déficience en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) ou de déficience en flavine adénine dinucléotide (FAD) (Barger, 2010 ; Powell et Torrance, 2012).

De plus, des eccentrocytes ont été observés chez le chien en cas de diabète acidocétosique, d'inflammation, de lymphome à cellules T et d'infestations sévères, notamment à *Babesia canis*. Les bovins peuvent présenter des eccentrocytes lors d'administration intraveineuse de peroxyde d'hydrogène (Barger, 2010 ; Harvey, 2012).

g. Kératocytes

Les kératocytes et leurs précurseurs sont une autre forme de fragmentation des hématies, et peuvent être associés aux schizocytes. Ils présentent une à deux projections adjacentes de membrane cellulaire, en forme de corne, suite à la perte de membrane et de cytoplasme d'un côté de la cellule (figure 36). Les blister cells sont les précurseurs de kératocytes : ce sont des hématies contenant une structure excentrée similaire à une vacuole, qui ensuite se rompt et forme un kératocyte. Les kératocytes sont observés en cas d'atteinte hépatique chez le chat, en cas d'hémangiosarcome ou d'administrations répétées de doxorubicine chez le chat et le chien (Walker, 2006 ; Barger, 2010).

[Figure 36](#) : Photographie d'un kératecyte



Frottis sanguin de chien, MGG, obj x100

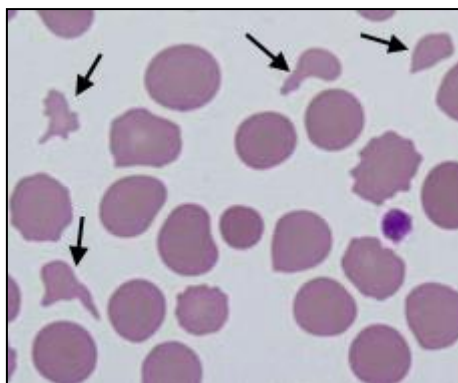
h. Leptocytes

Ce sont des hématies à l'épaisseur diminuée et au diamètre augmenté, qui apparaissent souvent hypochromes, avec un *ratio* membrane sur volume augmenté. Les leptocytes peuvent être pliés, ou prendre l'apparence de codocytes, de stomatocytes ou de knizocytes (hématies avec deux concavités ou plus, avec une barre foncée au centre de la cellule). Les leptocytes peuvent être observés en cas d'anémie par carence en fer, plus rarement en cas d'insuffisance hépatique ou d'atteinte hépatique avec cholestase (Barger, 2010).

i. Schizocytes

Les schizocytes sont de petits fragments irréguliers d'hématies. Ils présentent des bordures découpées asymétriques et des projections pointues. Les schizocytes de la figure 37 en sont des exemples, mais les formes possibles de schizocytes sont quasiment infinies.

[Figure 37](#) : Photographie de schizocytes



Schizocytes pointés par les flèches sur un frottis sanguin de chat, MGG, obj x50

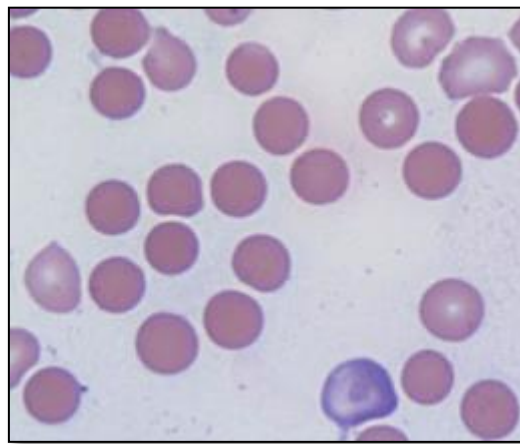
La fragmentation des hématies est le plus souvent due à une turbulence du flux sanguin (anémie hémolytique macro-angiopathique) ou à un dépôt important de fibrine dans la lumière de petits vaisseaux (anémie hémolytique micro-angiopathique). L'anémie hémolytique macro-angiopathique est la principale cause de fragmentation des hématies lors de sténose valvulaire cardiaque. L'anémie hémolytique micro-angiopathique est la cause de l'hémolyse observée en cas de CIVD ou d'inflammation sévère de tissus fortement vascularisés (rate, foie, poumon, reins). On observe donc des schizocytes en cas de thrombose, d'activité augmentée de la rate, de

glomérulonéphrite. Les deux types de mécanismes peuvent être associés lors d'hémolyse par fragmentation causée par une néoplasie vasculaire, comme un hémangiosarcome ou une néoplasie splénique. Enfin la fragmentation des hématies peut provenir d'une fragilité intrinsèque des cellules, comme en cas d'anémie par carence en fer, de toxicité de la doxorubicine (Walker, 2006 ; Powell et Torrance, 2012 ; Thrall, 2012).

j. Sphérocytes

Les sphérocytes sont de petites hématies sphériques à la coloration plus soutenue et marquées par une absence de pâleur centrale (figure 38). Ces cellules adoptent une forme sphérique suite à une augmentation de leur volume ou une diminution de leur surface membranaire, généralement suite à une phagocytose partielle. L'observation de sphérocytes sur un frottis implique la présence d'anticorps ou de complément à leur surface, qui sont reconnus par les phagocytes. La présence de sphérocytes est donc un marqueur sensible d'AHMI chez le chien (Powell et Torrance, 2012).

[Figure 38](#) : Photographie de sphérocytes



Frottis sanguin d'un chien présentant une AHMI, MGG, obj x 50

Les autres causes de formation de sphérocytes sont les envenimations ophidiennes, les piqûres d'abeilles, les intoxications au zinc, les parasites intra-érythrocytaires, la transfusion de sang stocké et la dysérythropoïèse familiale du chien. Certains auteurs rapportent l'observation de sphérocytes chez les bovins en cas d'anaplasmose et d'infection à *Theileria buffeli*, ainsi que chez des chevaux suite à des brûlures cutanées (Harvey, 2012).

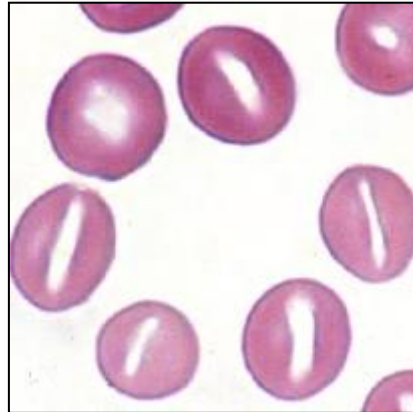
L'observation de sphérocytes est possible chez le chien, dont les hématies ont habituellement une pâleur centrale marquée. En revanche, il est difficile d'être certain de la présence de sphérocytes dans les autres espèces domestiques (Harvey, 2012).

k. Stomatocytes

Les stomatocytes sont des hématies dont la pâleur centrale est étroite et allongée, ce qui lui confère un aspect de bouche sur le frottis (figure 39). Ces cellules ont un aspect de coupe quand elles sont observées en trois dimensions. Ce sont le plus souvent des artefacts de préparation, lorsque le frottis est trop épais, lorsque le pH diminue ou en présence de molécules amphotères. Cependant, les stomatocytes se forment également lorsque la teneur en eau des hématies augmente, ce qui est le cas dans plusieurs formes héréditaires de stomatocytose. Chez le Schnauzer nain, le

Schnauzer moyen et le Loulou de Poméranie, la stomatocytose est asymptomatique. En revanche, la stomatocytose héréditaire du Malamute d'Alaska s'accompagne d'une chondrodysplasie. Chez l'Épagneul à perdrix de Drente, la stomatocytose est associée à une gastrite hypertrophique, ainsi qu'une espérance de vie diminuée des individus atteints. Selon la race concernée, la stomatocytose s'accompagne d'un VGM normal (Épagneul à perdrix de Drente) ou augmenté (Malamute, Schnauzer) (Barger, 2010 ; Harvey, 2012).

Figure 39 : Photographie de stomatocytes



Stomatocytose asymptomatique, associée à une hypochromie et une macrocytose érythrocytaires, chez un Loulou de Poméranie. Wright Giemsa, obj x100 (Photo : Harvey, 2012)

I. Hématies lysées

Les hématies lysées, communément appelées « fantômes » d'hématies, apparaissent complètement décolorées sur le frottis sanguin (figure 40). Comme les hématies lysées sont rapidement éliminées de la circulation sanguine, leur présence sur le frottis indique une hémolyse intravasculaire récente ou une hémolyse *in vitro* dans le tube de prélèvement. En cas d'hémolyse associée à la présence d'un agent oxydant comme le paracétamol, les fantômes d'hématies contiennent des corps de Heinz. Les hématies lysées avant la réalisation du frottis ont un aspect différent des hématies lysées par la préparation du frottis. Dans ce cas, les hématies apparaissent comme un halo rouge. Cette forme de lyse érythrocytaire est fréquente dans les échantillons lipémiques (Harvey, 2012).

Figure 40 : Photographie d'hématies lysées

Deux fantômes d'hématies, pointés par les flèches, chez un chat avec suspicion de mycoplasmosse (MGG, obj x100).

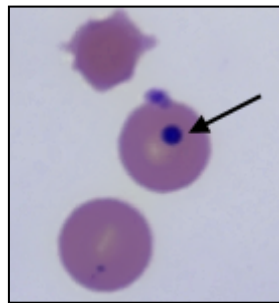


5. Inclusions pathologiques

a. Corps de Howell-Jolly

Les corps de Howell-Jolly peuvent être observés en petit nombre de façon physiologique chez le chien, le chat et le cheval (*cf.* II. A. 1. e.). Leur augmentation dans ces deux espèces ou leur présence sur le frottis d'une autre espèce est souvent observée en association avec une anémie régénérative ou suite à une splénectomie. Ainsi, sur le frottis de chat de la figure 41, on peut observer des corps de Howell-Jolly en association avec une anémie régénérative, dans le cadre d'une suspicion de mycoplasmosse. Le nombre de corps de Howell-Jolly peut également être augmenté dans le cadre d'un traitement aux glucocorticoïdes, lors de macrocytose bénigne du Caniche, ou lors de traitement de chimiothérapie si l'agent chimique induit une fragmentation nucléaire (comme la vincristine, la colchicine ou le cyclophosphamide) (Harvey, 2012).

[Figure 41](#) : Corps de Howell-Jolly

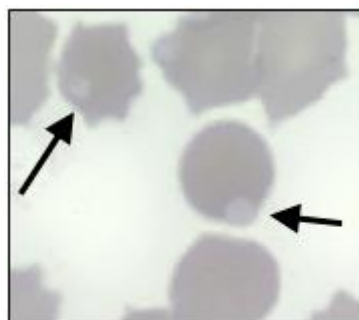


Frottis sanguin d'un chat avec suspicion de mycoplasmosse (MGG, obj x100)

b. Corps de Heinz

La présence d'un grand nombre de corps de Heinz (plus de 1 à 2 % chez un chat) est pathologique (figure 42). En effet, leur présence diminue la déformabilité des hématies, ce qui augmente leur sensibilité à l'hémolyse intra- et extravasculaire. C'est pourquoi un nombre élevé de corps de Heinz peut entraîner une anémie sévère par hémolyse. De plus, la taille des corps de Heinz varie selon la gravité des lésions oxydatives.

[Figure 42](#) : Corps de Heinz



Frottis sanguin d'un chat (MGG, obj x100)

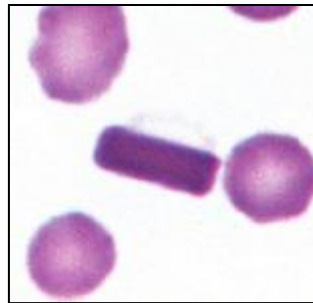
Certaines maladies fréquentes sont associées à l'augmentation du taux de corps de Heinz, comme le diabète sucré, le lymphome ou l'hyperthyroïdie. De plus, de nombreuses substances oxydantes induisent la formation de corps de Heinz, telles que l'oignon, l'ail, les plantes de la famille des Brassicacées, les feuilles d'Erable rouge, le zinc, le cuivre, le propofol, les phénothiazines, le naphthalène, le paracétamol,

la vitamine K, le bleu de méthylène ou le propylène glycol. Les molécules responsables de stress oxydatif peuvent varier d'une espèce à l'autre, ce qui est résumé dans la partie corps de Heinz du tableau de l'annexe 1 (Thrall, 2012).

c. Cristaux d'hémoglobine

Il est possible d'observer parfois de gros cristaux d'hémoglobine dans les hématies de chat (figure 43) et de chien, et plus fréquemment chez le lama ou le chameau. On peut en retrouver quelques-uns chez des chevaux présentant un déficit enzymatique (G6PD et FAD) (Harvey *et al.*, 2003). Une équipe (Simpson *et al.*, 1980) décrit de grands cristaux d'hémoglobine chez le cheval suite au traitement d'une piroplasmose par de l'imidocarb. Ces cristaux peuvent aussi se former suite à un stockage prolongé du prélèvement sanguin. Le mécanisme de formation de ces cristaux est inconnu pour le moment, mais il pourrait être influencé par différents facteurs comme le pH, la saturation en oxygène ou la déshydratation cellulaire (Harvey, 2012).

[Figure 43 : Cristal d'hémoglobine](#)



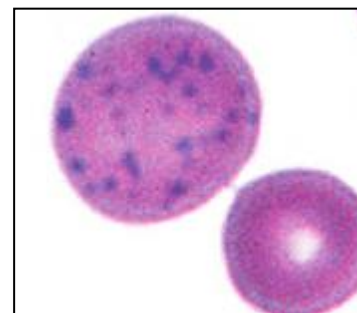
Cristal d'hémoglobine au centre de cette photographie de frottis sanguin de chat ; Wright-Giemsa, obj x100 (Photo : Harvey, 2012)

d. Ponctuations basophiles

Les ponctuations basophiles sont une légère ponctuation du cytoplasme des hématies par des fines granulations grises à bleu foncé. Elles correspondent à l'agrégation de ribosomes. Ces ponctuations basophiles sont associées à la présence d'hématies immatures chez les ruminants (figure 44). Elles peuvent parfois être observées en cas d'anémie régénérative intense chez le chien ou le chat. La présence de ponctuations basophiles en l'absence d'anémie est un signe d'intoxication au plomb, mais elle n'est pas systématique (Walker, 2006 ; Thrall, 2012).

[Figure 44 : Photographie de ponctuations basophiles](#)

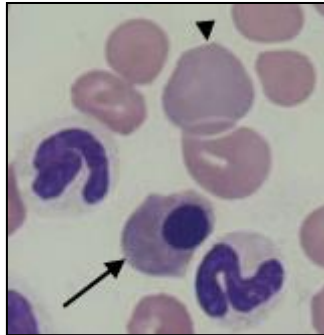
Ponctuations dans une grande hématie, chez un mouton avec anémie régénérative ;
Wright-Giemsa, objx100 (Photo : Harvey, 2012)



e. Erythroblastes

Une augmentation du nombre d'érythroblastes circulants peut être associée à une anémie régénérative (figure 45) et à un relargage précoce des hématies par la moelle osseuse, en réponse à l'hypoxie. Un nombre élevé d'érythroblastes peut également être observé en cas de d'anomalie de la rate ou de taux élevé de corticostéroïdes sanguins, d'origine endogène ou exogène. Chez le chat, l'observation d'érythroblastes en l'absence de réticulocytes est un signe de myélodysplasie ou de myéloprolifération anormale (Thrall, 2012 ; Lallemand et Rannou, 2014).

[Figure 45 : Erythroblaste et réticulocyte](#)



La flèche désigne l'érythroblaste, la tête de flèche montre le réticulocyte, sur ce frottis sanguin d'un chien avec anémie régénérative. (MGG, obj x50)

f. Granulations sidériques

Les granulations sidériques sont des agrégats de fer dans les mitochondries ou les lysosomes des hématies. Aussi appelées Corps de Pappenheimer, elles apparaissent comme des granules basophiles aux contours irréguliers, en périphérie de la cellule. La distinction avec les ponctuations basophiles se fait par une coloration au Bleu de Prusse, qui permet de confirmer la présence de fer dans les granulations. Les hématies qui contiennent ces granulations sidériques sont des sidérocytes. Ils sont très rares chez les animaux domestiques. Ils ont pu être observés lors de traitement au chloramphénicol, en cas de myélodysplasie ou d'érythropoïèse inefficace idiopathique (Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

g. Agents infectieux

De nombreux agents infectieux se retrouvent dans les hématies des espèces domestiques. Parmi ceux-ci, on recense des parasites protozoaires intracellulaires (*Babesia* spp. *Theileria* spp, ou *Cytauxzoon felis*), des bactéries intracellulaires de la famille des Rickettsiales (*Anaplasma* spp.) et des bactéries épicyellulaires comme *Mycoplasma*.

Les agents infectieux des hématies doivent être distingués des artefacts, tels que les précipités de colorants, les artefacts de séchage ou de fixation ou un défaut de coloration de corps de Howell-Jolly ou de ponctuations basophiles. La superposition d'une plaquette et d'une hématie peut également être confondue avec une *Babesia* (Harvey, 2012).

Le sang frais sans anticoagulant est plus fiable pour détecter la présence de parasites des hématies. En effet, les parasites peuvent se détacher de la membrane

des hématies lors d'utilisation d'anticoagulants, notamment ceux contenant des chélateurs de calcium comme l'EDTA (Walker, 2006).

i. Mycoplasmoses

La mycoplasmoses (anciennement appelée hémobartonellose) est une maladie parasitaire dont l'agent responsable est un mycoplasme qui se fixe sur la membrane des hématies et provoque une hémolyse. Elle se caractérise par la présence d'une chaînette basophile sur les hématies (figure 46) ou celle de petits éléments basophiles en forme de bâtonnets attachés à la membrane externe des hématies (figure 47). On peut retrouver ces organismes sur des « fantômes » d'hématies qui ont été lysées. La présence de *Mycoplasma spp.* est en général associée à des signes d'anémie régénérative. Les mycoplasmes ne doivent pas être confondus avec des artéfacts ou une contamination du frottis par des coques cutanées.

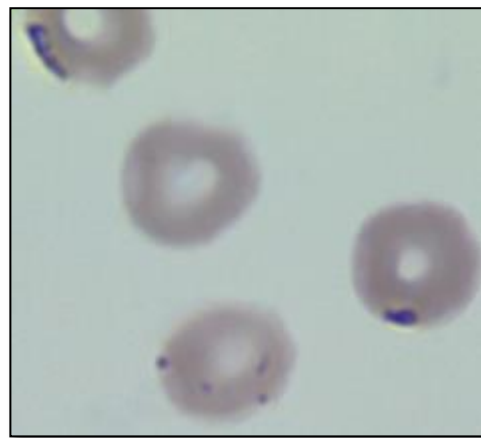
La mycoplasmoses peut occasionnellement toucher les chiens (*Mycoplasma canis*), suite à une splénectomie ou une atteinte de la rate (figure 46). Les chats sont bien plus sensibles à la mycoplasmoses (à *Mycoplasma haemofelis* notamment). Certains chats sont des porteurs sains, qui seront donc asymptomatiques. En revanche, en cas de symptômes associés à la présence de mycoplasmes au frottis, tels qu'une anémie, une hyperthermie ou un ictère, il est conseillé de rechercher une cause d'immunodépression concomitante comme le FeLV ou le FIV (figure 47) (Thrall, 2012 ; Hébert et Bulliot, 2014).

Figure 46 : Mycoplasmoses chez un chien



MGG, obj x100

Figure 47 : Mycoplasmoses chez un chat FIV +



MGG, obj x100

La mycoplasmoses existe également chez les bovins, due à *Hemobartonella bovis* ou *Mycoplasma wenyonii* notamment. Comme chez le chat, l'infection est généralement latente mais peut être symptomatique chez un sujet débilité.

ii. Babésiose

La babésiose est une maladie parasitaire sanguine due à un protozoaire, *Babesia*, transmis par les tiques. On dénombre plus d'une centaine d'espèces de *Babesia*, qui infectent des animaux domestiques ou sauvages et l'Homme dans le monde entier. Le terme de piroplasma regroupe les protozoaires du genre *Babesia* et du genre *Theileria*. Le tableau 4 présente les espèces les plus fréquentes de piroplasmes selon l'espèce domestique considérée.

Tableau 4 : Principales espèces de piroplasmes rencontrées selon l'espèce domestique

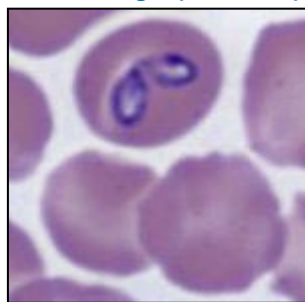
Espèces domestiques	Piroplasmes
Chien	<i>Babesia canis</i> , <i>Babesia gibsoni</i> , <i>Babesia vogeli</i> , <i>Babesia rossi</i>
Chat	<i>Babesia felis</i>
Bovin	<i>Babesia bovis</i> , <i>Babesia bigemina</i> , <i>Babesia divergens</i> (en Europe) <i>Theileria annulata</i> (tropiques), <i>Theileria parva</i> (Afrique)
Ovins	<i>Theileria ovis</i>
Cheval	<i>Babesia caballi</i> , <i>Babesia equi</i>
Souris	<i>Babesia microti</i>

D'après Harvey, 2012 ; Thrall, 2012

Il est important de prélever du sang périphérique pour les rechercher (face interne du pavillon de l'oreille, griffe). En effet, les hématies parasitées sont moins souples et ont tendance à rester coincées dans les capillaires périphériques.

Habituellement, *Babesia canis* apparaît comme une inclusion claire en forme de poire ou de goutte d'eau, avec un noyau. *B. canis* mesure 2,5 à 5 µm de diamètre et les parasites sont souvent par paire au sein d'une même hématie (figure 48). D'autres, comme *B. gibsoni*, sont plus petites (1 à 2,5 µm) avec une taille et une forme très variables. Dans le cas de *B. gibsoni* et *B. felis*, un seul organisme est généralement présent par hématie, ce qui les rend plus difficiles à observer. La présence de *Babesia* s'accompagne généralement d'une monocytose et d'érythroblastose (Thrall, 2012 ; Lallemand et Rannou, 2014).

Figure 48 : Photographie de piroplasmes



Piroplasmes (probablement *B. canis*) dans une hématie de chien (MGG, obj x100)

iii. Cytauxzoon felis

Un autre parasite moins commun des hématies du chat est *Cytauxzoon felis*. Il apparaît comme un petit anneau (de diamètre 0,5 à 1,5 µm) dans l'hématie et il contient un petit noyau basophile (Thrall, 2012).

iv. Anaplasmosse bovine

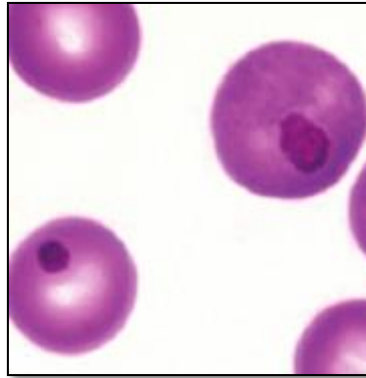
De nombreux micro-organismes parasites appartenant à l'ordre des Rickettsiales peuvent infecter les cellules sanguines après transmission par un arthropode (tique généralement). Certains infectent les hématies comme *Anaplasma marginale* et *Anaplasma centrale*, observés chez les ruminants. Ils apparaissent comme une inclusion ronde à ovale basophile au centre de l'hématie pour *A. centrale*, ou en périphérie pour *A. marginale*, à distinguer de corps de Howell-Jolly. Les

inclusions d'*Anaplasma* n'ont pas une forme parfaitement sphérique et sont généralement plus petites que les corps de Howell-Jolly. Leur présence entraîne une hémolyse des hématies infectées. *A. centrale*, décrite en Amérique du Sud et en Afrique du Sud, est moins pathogène que *A. marginale*. *A. ovis* est pathogène pour les ovins, les caprins et certains ruminants sauvages (Harvey, 2012 ; Lallemand et Rannou, 2014).

v. Inclusions virales

Au cours de la phase virémique de la maladie de Carré chez le chien, des inclusions virales peuvent parfois être observées dans les hématies. Elles sont issues de l'agrégation de nucléocapsides viraux. Elles se présentent sous la forme d'inclusions de nombre et de taille variables (1 à 2 µm), dont la couleur varie du bleu clair au magenta. Elles sont plus fréquentes dans les hématies polychromatophiles. Ces inclusions apparaissent rouges et sont plus facilement identifiables avec une coloration de type Diff-Quick (figure 49) (Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

[Figure 49](#) : Photographie d'inclusions de maladie de Carré



Inclusion dans une hématie (en bas à gauche) et une hématie polychromatophile (en haut à droite) chez un chien ; Diff-Quick, obj x100 (Photo : Harvey, 2012)

III. Leucocytes

Les leucocytes, couramment appelés globules blancs, sont divisés en cellules dont le cytoplasme contient des granulations (les granulocytes) et en cellules agranulocytaires, c'est-à-dire les lymphocytes et les monocytes.

A. Granulocytes

Les granulocytes, auparavant appelés polynucléaires en raison de l'aspect plurilobé de leur noyau, sont eux-mêmes divisés en trois catégories, selon l'affinité de leurs granulations cytoplasmiques pour les composants des colorants de type Romanowsky. On distingue les granulocytes neutrophiles, dont les granulations sont peu visibles et de couleur mauve à rose pâle, les granulocytes éosinophiles, aux granulations cytoplasmiques roses à orangé chez le cheval, et les granulocytes basophiles aux granulations violet foncé.

1. Granulocytes neutrophiles

La fonction des granulocytes neutrophiles est de participer à la réponse inflammatoire. Ils sont attirés dans les tissus inflammés par attraction chimique et sortent des vaisseaux sanguins par diapédèse. Une fois sur le site de l'inflammation, ils phagocytent les bactéries et autres éléments étrangers à l'organisme, grâce à des récepteurs membranaires. Suite à la phagocytose, les lysosomes des neutrophiles fusionnent avec leurs phagosomes pour lyser les micro-organismes et les dégrader par digestion enzymatique (Thrall, 2012).

a. Morphologie normale des granulocytes neutrophiles

Les granulocytes neutrophiles sont les leucocytes circulants les plus nombreux chez le chien, le chat et le cheval en bonne santé. Ils représentent en moyenne 60 % des leucocytes chez le chat et 70 % chez le chien. (Walker, 2006) Les bovins, les ovins, les caprins et les porcs, en revanche, possèdent davantage de lymphocytes que de granulocytes neutrophiles.

Leur morphologie est assez constante d'une espèce de Mammifère à une autre. Ce sont des cellules de 10 à 15 μm de diamètre, au noyau plurilobé, généralement en trois à cinq segments. La chromatine est colorée en bleu à violet et condensée, en alternance avec des zones moins condensées plus claires, ce qui confère un aspect hétérogène au noyau. Les lobes sont reliés par des strictions du noyau. La figure 50 présente des exemples de granulocytes neutrophiles normaux de chien.

[Figure 50](#) : Granulocytes neutrophiles de chien

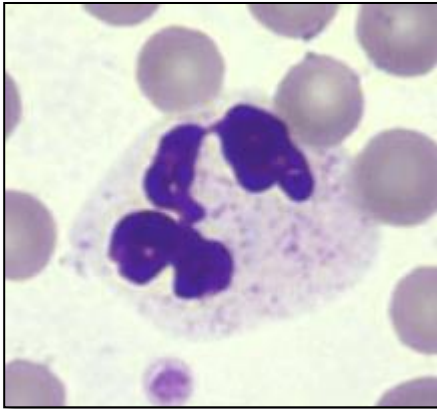
MGG, obj x50



Le cytoplasme des granulocytes neutrophiles apparaît le plus souvent transparent, mais il peut être rose pâle à légèrement basophile. Il contient de nombreuses granulations peu visibles et faiblement colorées. Elles peuvent être

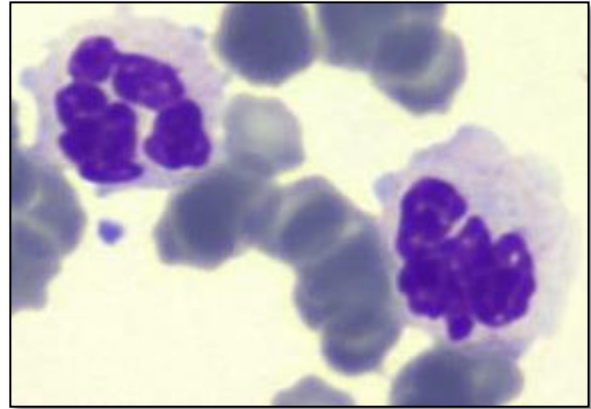
légèrement rosées chez les bovins (figure 51) et les chevaux (figure 52), et sont alors mieux visibles.

Figure 51 : Granulocyte neutrophile de bovin



MGG, obj x100

Figure 52 : Granulocytes neutrophiles de cheval



MGG, obj x100

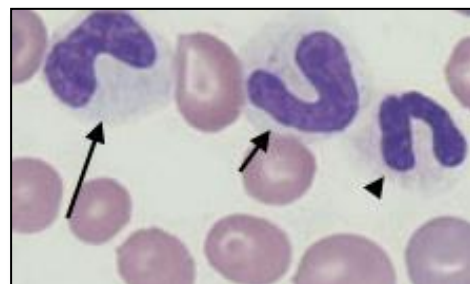
Chez les femelles de Mammifères, un corps de Barr peut être présent de façon physiologique sur un faible pourcentage de neutrophiles. C'est un petit lobe de chromatine qui contient le chromosome X inactivé. Il a l'aspect d'un corps basophile rond à l'extrémité du dernier lobe du noyau (Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

b. Précurseurs des granulocytes neutrophiles

Les granulocytes neutrophiles sont produits dans la moelle osseuse en quatre à huit jours. La cellule précurseur est le myéloblaste, qui se différencie en promyélocyte, puis en myélocyte, puis en métamyélocyte, puis en neutrophile non segmenté (dit « band cell » en anglais) et enfin en neutrophile segmenté mature. Les métamyélocytes ont un noyau en forme de haricot (figure 53) et sont absents d'un frottis sanguin normal, ainsi que leurs précurseurs. Dans les neutrophiles non segmentés, le noyau prend ensuite la forme d'un fer à cheval, avec une surface lisse, des bords parallèles, et sans aucune striction (figure 53), contrairement aux granulocytes neutrophiles matures. Ces neutrophiles non segmentés sont présents en faible nombre de façon physiologique dans le sang. La différenciation cellulaire s'accompagne d'une diminution progressive de la taille des cellules, d'une condensation de la chromatine et d'une modification du cytoplasme (qui s'éclaircit entre le myéloblaste et le neutrophile mature) (Harvey, 2012 ; Thrall, 2012 ; Lallemand et Rannou, 2014).

Figure 53 : Métamyélocyte, neutrophile non segmenté et neutrophile hyposegmenté

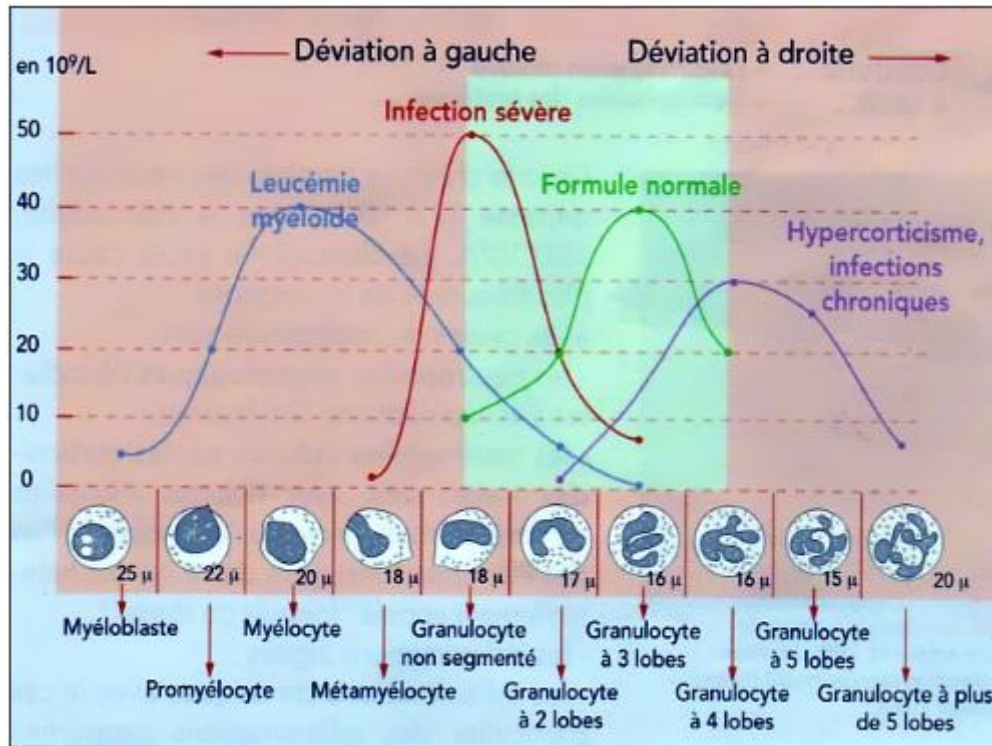
De gauche à droite : Métamyélocyte, neutrophile non segmenté, neutrophile hyposegmenté. Frottis sanguin de chien, MGG, obj x50



c. Courbe d'Arnerth

La courbe d'Arnerth (figure 54) classe les granulocytes neutrophiles selon le nombre de lobes de leur noyau, les plus segmentés étant placés à droite de la courbe.

[Figure 54](#) : Courbe d'Arnerth chez les carnivores



D'après Ledieu, 2004

i. Virage à gauche : hyposegmentation

On parle de virage à gauche de la courbe d'Arnerth (left shift en anglais) lorsque le nombre de neutrophiles immatures présents dans la circulation sanguine augmente. Ceci concerne les neutrophiles non segmentés (figures 55 et 56), les métamyélocytes et leurs précurseurs. Les virages à gauche sont souvent associés à une inflammation aiguë, qu'elle soit d'origine infectieuse, auto-immune ou en cas d'infiltration de la moelle osseuse. Un virage à gauche peut s'accompagner d'une neutrophilie ou d'une neutropénie, selon le nombre de neutrophiles consommés sur le site de l'inflammation par rapport aux neutrophiles immatures libérés par la moelle osseuse. En cas d'inflammation, les animaux qui présentent un virage à gauche ont souvent des modifications toxiques du cytoplasme des neutrophiles. Les virages à gauche sont aussi observés en cas de leucémie myéloïde chronique (Harvey, 2012).

[Figure 55](#) : Virage à gauche : granulocytes neutrophiles hyposegmentés

Chien, MGG, obj x50

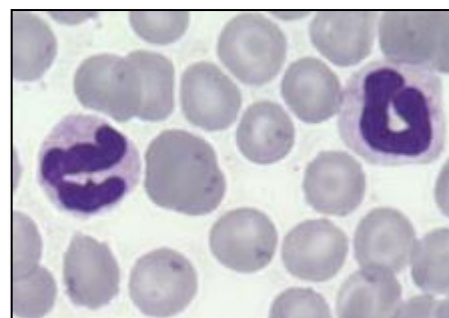


Figure 56 : Granulocytes neutrophiles hyposegmentés



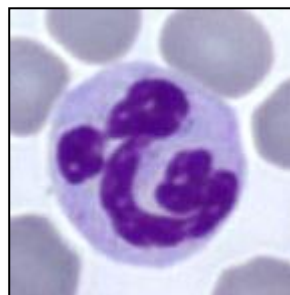
Chien, MGG, obj x50

ii. Virage à droite : hypersegmentation

La segmentation du noyau des neutrophiles est un processus de maturation physiologique et continu. En quelques heures, la cellule passe du stade de neutrophile non-segmenté à celui de neutrophile segmenté mature, puis de neutrophile hypersegmenté (figure 57). A l'état physiologique, la segmentation continue jusqu'à une condensation irréversible de la chromatine nucléaire, qui se produit une fois que les neutrophiles sont sortis de la circulation sanguine. Une hypersegmentation des neutrophiles circulants, avec des noyaux à cinq lobes ou plus chez les carnivores, se traduit par un virage à droite de la courbe d'Arneth (right shift). Chez un cheval sain, le noyau des neutrophiles possède en moyenne cinq lobes. L'hypersegmentation a donc été définie dans cette espèce à partir de sept lobes nucléaires ou plus. Chez la Souris, le seuil est de six lobes ou plus (Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

Figure 57 : Granulocyte neutrophile hypersegmenté

Chat, MGG, obj x100



L'hypersegmentation des neutrophiles s'observe sur un frottis en cas de rétention anormalement longue des neutrophiles dans les vaisseaux. Dans la majorité des cas, l'hypersegmentation est une conséquence de l'administration de glucocorticoïdes ou d'un hyperadrénocorticisme (Eichacker et Laurence, 1985). Elle peut être parfois la conséquence d'un état inflammatoire chronique. L'hypersegmentation a également été décrite dans un cas de néoplasie myéloïde par Raskin et Krehbiel en 1985. L'équipe de Prass *et al.* (1981), ainsi que Tvedten et Riihimaki (2007), décrivent des cas d'hypersegmentation idiopathique, probablement d'origine héréditaire, chez des chevaux Quarter Horse qui restent asymptomatiques. L'hypersegmentation neutrophilique a également été décrite chez des chiens présentant un défaut héréditaire d'absorption de la cobalamine, ainsi que chez un chat avec une carence en folates (Fyle *et al.*, 1991 ; Myers *et al.*, 1996).

Enfin, l'hypersegmentation est rapportée par Stockham et Scott (2008) comme un artefact de vieillissement *in vitro* des cellules. Cet artefact se produit lorsque l'échantillon de sang est analysé tardivement par rapport au prélèvement.

d. Modifications neutrophiliques toxiques

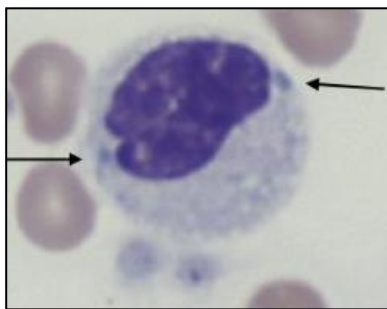
En situation inflammatoire sévère, la moelle osseuse accélère la production des granulocytes neutrophiles, ce qui entraîne des modifications du cytoplasme, appelées modifications toxiques. Ces modifications interviennent dans la moelle osseuse avant la libération des cellules dans la circulation sanguine. Les cellules concernées semblent cependant garder une fonction normale. Les modifications toxiques des granulocytes neutrophiles sont les altérations leucocytaires les plus fréquemment observées sur un frottis.

Les modifications d'origine toxique des neutrophiles sont souvent associées à d'autres modifications qualitatives du leucogramme. Les neutrophiles peuvent avoir un noyau lysé, fragmenté (caryorrhexie) ou hyposegmenté. On peut observer des neutrophiles géants présentant des anomalies nucléaires, plus fréquents chez les chats. Les neutrophiles toxiques sont plus fréquemment associés à des infections bactériennes (pyothorax, pyomètre, septicémie), mais ils peuvent également être observés en cas d'infection virale (parvovirose du chat et du chien, infection respiratoire haute chez le chat), en cas d'AHMI chez le chien ou en cas de trouble métabolique (Aroch *et al.*, 2005 ; Segev *et al.*, 2006) ;

i. Corps de Döhle

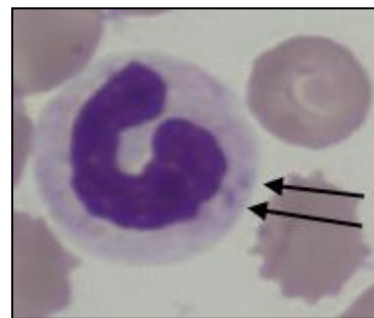
Les corps de Döhle sont de petites inclusions grises à bleutées, de forme angulaire, retrouvées dans le cytoplasme des neutrophiles et de leurs précurseurs (figures 58 et 59). Ils sont issus de l'agrégation de réticulum endoplasmique. Ils représentent la modification toxique la plus légère que l'on puisse observer.

[Figure 58](#) : Corps de Döhle dans un granulocyte neutrophile



Chat, MGG, obj x100

[Figure 59](#) : Neutrophile hyposegmenté avec corps de Döhle



Chien, MGG, obj x100

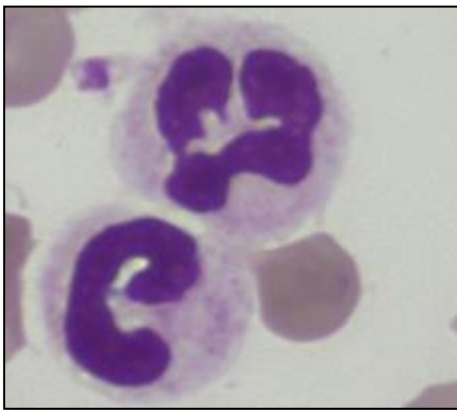
Chez le chien, la présence de corps de Döhle est toujours la conséquence d'une inflammation systémique. Fréquents chez le chat, ils peuvent être observés en l'absence d'inflammation significative, chez un individu qui présente une granulopoïèse accélérée (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

Les corps de Döhle doivent être distingués des granulations de fer, des inclusions virales de la maladie de Carré chez le chien, et des granulations chez le chat en cas de syndrome de Chédiak-Higashi (Harvey, 2012).

ii. Cytoplasme basophile mousseux

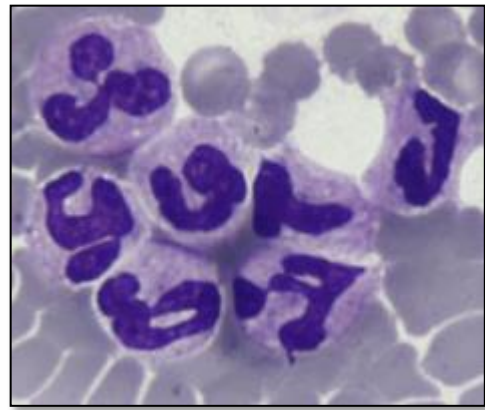
La basophilie du cytoplasme est une forme plus sévère de modification d'origine toxique, observée dans les neutrophiles et leurs précurseurs. Le cytoplasme prend un aspect bleu pâle. Il peut être homogène ou avoir un aspect mousseux suite à la formation de nombreuses vacuoles. Les granulocytes neutrophiles de la figure 60 ont une toxicité modérée : leur cytoplasme présente une légère basophilie. Sur la figure 61, les granulocytes neutrophiles ont de nombreuses modifications toxiques : le cytoplasme de tous les neutrophiles a une basophilie intense et il est spumeux (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

[Figure 60](#) : Granulocytes neutrophiles aux modifications toxiques discrètes



Cytoplasme légèrement basophile et spumeux. Frottis sanguin de chien, MGG, obj x100.

[Figure 61](#) : Granulocytes neutrophiles à nombreuses modifications toxiques



Cytoplasme fortement basophile et spumeux. Chat, MGG, obj x50.

iii. Granulation toxique

La granulation toxique est un phénomène assez rare, issu d'une granulopoïèse très anormale. Les neutrophiles possèdent alors des granulations magenta (rouge violacé), qui sont des granulations primaires de mucopolysaccharides. Ces granulations sont habituellement observées dans les promyélocytes dans la moelle osseuse et sont normalement éliminées au cours de la différenciation cellulaire. La présence de cette granulation toxique et de cytoplasme basophile est un signe de toxicité sévère. La granulation toxique est le plus souvent rencontrée chez les chevaux, et rarement chez les carnivores domestiques (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

iv. Noyau en forme de donut

Une autre modification toxique des neutrophiles est la présence d'un noyau en forme de donut ou d'anneau. Ils sont rarement observés et sont souvent associés à une septicémie. Ils ne doivent pas être confondus avec des noyaux dont les extrémités se superposent (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

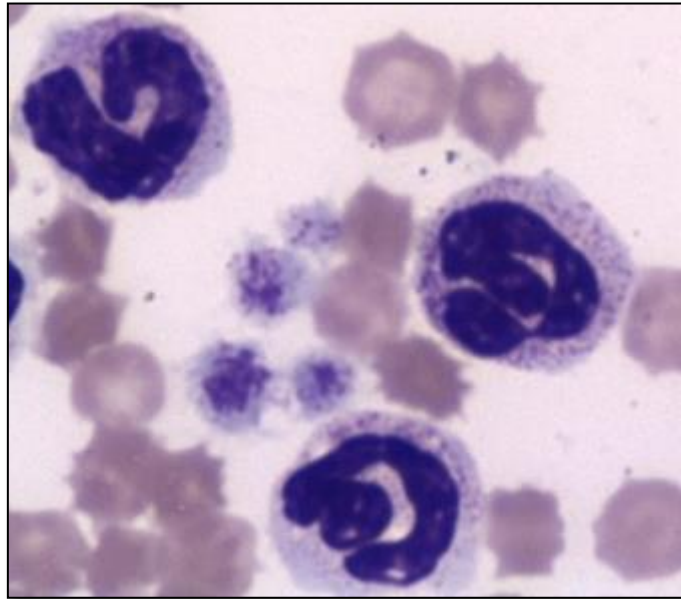
e. Anomalies neutrophiliques héréditaires

i. Altération des granulations du chat Sacré de Birmanie

De petites granulations magenta ont été décrites dans le cytoplasme de granulocytes neutrophiles de chats Sacré de Birmanie (figure 62). Cette anomalie héréditaire est transmise selon un mode autosomique récessif et observée sur des

frottis sanguins de chats asymptomatiques. Les chats affectés par cette anomalie ne semblent pas prédisposés aux infections (Weiss, 2010 ; Harvey, 2012).

[Figure 62](#): Granulations magenta dans des granulocytes neutrophiles de chat Sacré de Birmanie



MGG, obj x100

Des granulations similaires ont été retrouvées dans des neutrophiles de quelques chats de race Himalayen et Siamois (Harvey, 2012).

ii. Syndrome de Chédiak-Higashi

Transmis sur un mode autosomique récessif, le syndrome de Chédiak-Higashi est décrit dans quelques espèces domestiques dont plusieurs races de bovins (Hereford, Brangus) ainsi que des chats Persans. Ces espèces ont un défaut de stockage des protéines lysosomales, qui entraîne notamment la formation de granulations lysosomales anormales. Les neutrophiles des bovins et des chats atteints contiennent de larges granulations rose à magenta dans leur cytoplasme. Les individus présentent un albinisme oculaire et cutané partiel, une sensibilité accrue aux infections et une tendance à l'hémorragie (Weiss, 2010 ; Harvey, 2012).

iii. Mucopolysaccharidose

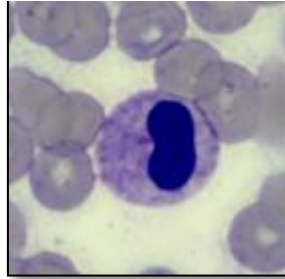
La mucopolysaccharidose est la conséquence d'un déficit enzymatique dans le catabolisme des mucopolysaccharides (les glycoaminoglycanes), d'où une accumulation dans des granulations cytoplasmiques. Ceci se traduit par la présence de granulations azurophiles dans le cytoplasme des neutrophiles. Lors de coloration au bleu de Toluidine, ces granulations apparaissent métachromatiques. Différentes formes génétiques de mucopolysaccharidose ont été décrites chez le chat et le chien (Weiss, 2010).

iv. Anomalie de Pelger-Huët

Cette anomalie congénitale d'origine héréditaire est retrouvée chez des chiens de race (notamment le Berger Australien) ou croisés, des chats à poils à courts, des chevaux (Gill *et al.*, 2006) et des lapins et existe chez l'Homme. Elle se caractérise par un défaut de segmentation des noyaux des granulocytes matures, bien que leur chromatine soit condensée (figure 63). Les noyaux des éosinophiles et des basophiles peuvent aussi être hyposegmentés. La différence avec des granulocytes immatures

peut se faire grâce à l'absence de modifications toxiques. Le frottis des individus atteints comprend également des mégaplaquettes.

Figure 63 : Granulocyte neutrophile avec anomalie de Pelger-Hüet



Chien, MGG, obj 50

Les individus hétérozygotes sont asymptomatiques et la découverte de l'anomalie est souvent fortuite. Cependant, les individus homozygotes présentent des anomalies squelettiques et décèdent souvent *in utero* ou rapidement après la naissance (Walker, 2006 ; Weiss, 2010 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

f. Inclusions cytoplasmiques

i. Inclusions sidériques

Des inclusions de couleur marron ou noir, composées d'hémosidérine, peuvent parfois être observées dans le cytoplasme des neutrophiles et des monocytes. Gaunt et Baker ont montré en 1986 que ces inclusions peuvent être la conséquence de la phagocytose d'hématies en cas d'anémie hémolytique ou d'état inflammatoire sévère. Ces inclusions fixent le Bleu de Prusse en raison de leur important taux de fer, ce qui permet de les différencier des corps de Döhle (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

ii. Inclusions virales

Lors de la phase de virémie aiguë d'une maladie de Carré, des inclusions virales peuvent être présentes dans le cytoplasme des leucocytes, comme dans celui des hématies. Dans les granulocytes neutrophiles, ces inclusions sont de petits corps éosinophiles ou basophiles. Leur observation est facilitée par l'utilisation de colorations rapides de type Diff-Quick. Elles apparaissent alors comme de petites inclusions rouges de 1 à 4µm de diamètre, de forme variable (Harvey, 1982).

iii. Rickettsies

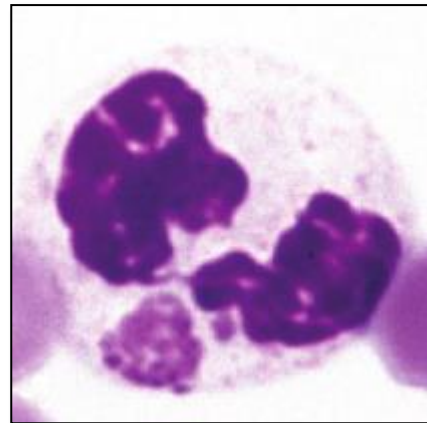
Anaplasma phagocytophilum, *Ehrlichia ewingii* et *Ehrlichia canis* sont des espèces de Rickettsies qui peuvent être retrouvées dans le cytoplasme des granulocytes. Elles se présentent sous la forme de morulas basophiles (figures 64 et 65) dans les phagosomes, lors de coloration au May-Grünwald-Giemsa. Elles sont fréquemment observées dans les neutrophiles, et parfois dans celui des éosinophiles, en phase aiguë d'infection. *Anaplasma phagocytophilum* est pathogène chez les bovins, les ovins, les caprins, les carnivores domestiques et le cheval (figure 65), et est notamment responsable de l'ehrlichiose granulocytaire bovine. Les symptômes sont différents selon l'espèce atteinte et le variant de Rickettsie présent. Ils peuvent s'accompagner de modifications de l'hémogramme telles qu'une thrombocytopenie, une anémie ou une leucopénie (Harvey, 2012 ; Lallemand et Rannou, 2014).

Figure 64 : Morula d'*Ehrlichia ewingii*



Granulocyte neutrophile de chien
Wright-Giemsa, obj x100
(Photo : Harvey, 2012)

Figure 65 : Morula d'*Anaplasma phagocytophilum*

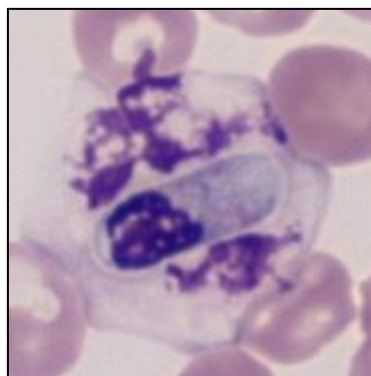


Granulocyte neutrophile de cheval,
Wright-Giemsa, obj x100
(Photo : Harvey, 2012)

iv. Hepatozoon

Hepatozoon est un parasite protozoaire qui infeste les cellules sanguines de Mammifères. Deux espèces d'*Hepatozoon* (*H. canis* et *H. americanum*) peuvent parasiter les chiens et être observées dans le cytoplasme des granulocytes neutrophiles. L'observation de *H. canis* est beaucoup plus fréquente que celle de *H. americanum* (Little *et al.*, 2009). Ce sont de larges structures oblongues qui déforment les contours du cytoplasme et du noyau. La figure 66 montre une inclusion d'*Hepatozoon* dans un granulocyte neutrophile de chien. Malheureusement, le noyau de ce neutrophile a subi un artéfact de vieillissement, car la lame n'était pas protégée, ce qui le rend difficile à identifier. Les inclusions d'*Hepatozoon* fixent peu les colorants de Wright ou Diff-Quick et apparaissent alors transparentes, mais sont plus facilement mises en évidence avec le colorant de Giemsa qui colore leur noyau (Harvey, 2012).

Figure 66 : Inclusion d'*Hepatozoon* et artéfact de vieillissement du noyau



Granulocyte neutrophile de chien, MGG, obj x100

g. Neutrophiles géants

La taille des granulocytes neutrophiles peut être altérée en cas d'inflammation ou de dysgranulopoïèse (Jain, 1993 cité par Harvey, 2012). Ces neutrophiles géants peuvent présenter une morphologie nucléaire normale, une hypersegmentation, ou une hyposegmentation avec ou sans signes de toxicité. Le noyau du neutrophile géant de la figure 67 est hyposegmenté et son cytoplasme présente une toxicité élevée, avec des corps de Döhle et une basophilie.

Figure 67 : Granulocyte neutrophile géant, hyposegmenté et toxique



Signes de toxicité avec la présence de corps de Döhle dans le cytoplasme (Chat, MGG, obj x50)

La présence de ces cellules géantes est bien plus fréquente chez le chat que chez le chien. Le tableau 5 regroupe les différentes causes possibles de formation de neutrophiles géants.

Tableau 5 : Causes de formation des neutrophiles géants

Causes de formation des neutrophiles géants	
Inflammation	<i>Signes de toxicité possibles</i>
Dysgranulopoïèse primaire	Leucémie myéloïde chronique
	Syndrome myélodysplasique lors d'infection par le FeLV (chat)
Dysgranulopoïèse consécutive à un autre trouble	Infection par le FIV (chat)
	Lymphome
	Thrombocytopénie à médiation immune
	AHMI
	Pyomètre (chien)
	Régénération granulocytaire suite à une hypoplasie (panleucopénie chez le chat)

D'après Weiss et Aird (2001) cités par Harvey en 2012.

h. Artefacts des granulocytes neutrophiles

Un observateur inexpérimenté peut confondre des granulocytes neutrophiles avec des basophiles, si des précipités de colorants se superposent aux cellules. Ils donnent alors l'impression d'observer des granules basophiles.

De plus, un stockage prolongé d'un prélèvement avec EDTA a des conséquences sur la morphologie des neutrophiles. Il peut être à l'origine d'une vacuolisation transparente du cytoplasme des neutrophiles, sans basophilie associée. Cet artefact est à distinguer de l'aspect basophilique mousseux présent en cas de modification toxique des neutrophiles. Le retard à la réalisation du frottis peut également altérer les membranes cellulaires, favoriser l'hypersegmentation ainsi que l'apparition d'images de pycnose (rétraction du noyau qui devient petit et très coloré) (Harvey, 2012).

i. Modifications du nombre de granulocytes neutrophiles

Le nombre de granulocytes neutrophiles dans la circulation sanguine est très variable : il peut être très augmenté ou au contraire considérablement diminué. Pour toutes les lignées de granulocytes, la numération de cellules circulantes est la résultante de plusieurs paramètres :

- la granulopoïèse : la production et la libération des cellules par la moelle osseuse,
- la démargination : un passage des granulocytes de la réserve sanguine (veines et capillaires de certains organes comme les poumons) vers la circulation générale,
- la sortie des cellules hors du compartiment sanguin vers les tissus périphériques (la diapédèse),
- la consommation par le site inflammatoire.

v. Neutrophilie

Une neutrophilie est une augmentation du nombre de granulocytes neutrophiles au-delà de 15 500 neutrophiles / mm³ chez le chien, 11 500 chez le chat. Les causes principales de neutrophilie sont présentées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Etiologie et mécanismes principaux de la neutrophilie

Neutrophilie		
Causes	Mécanisme	Virage à gauche
Réponse physiologique aux catécholamines (peur, excitation, effort)	Démargination	Non
Glucocorticoïdes : <ul style="list-style-type: none">• Endogènes (syndrome de Cushing, stress, douleur, traumatisme)• Exogènes (traitement)	Démargination, diminution de la diapédèse, augmentation de la libération par la moelle	Non (virage à droite plutôt)
Inflammation aiguë (6 à 8 heures après le stimulus chez le chien)	Augmentation de la libération par la moelle	Souvent (modifications toxiques possibles)

Inflammation modérée ou chronique (jours, semaines)	Production et libération par la moelle	Modéré ou absent
Syndrome paranéoplasique, hémorragie, hémolyse, nécrose, maladie à médiation immune, thrombose, brûlures, urémie	Multiples	Non

D'après Schultze, 2010 ; Harvey, 2012 ; Thrall 2012

La plupart des états inflammatoires conduisent à une neutrophilie, plus ou moins marquée, qui s'explique par une libération des neutrophiles par la moelle osseuse supérieure à leur consommation. La sévérité du phénomène peut être appréciée en étudiant la répartition des cellules sur la courbe d'Arneth et la présence éventuelle de modifications toxiques (Schultze, 2010 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

L'équilibre entre la production et la consommation des neutrophiles dépend de l'espèce considérée. En effet, la capacité de production de la moelle osseuse et la réserve de cellules est variable selon l'espèce. Le chien possède la réserve de neutrophiles la plus importante et la capacité de production la plus élevée. A l'inverse, les ruminants ont la réserve neutrophilique et la capacité de production les plus faibles. La capacité des chats et des chevaux à libérer des neutrophiles dans la circulation sanguine est intermédiaire entre celle des chiens et celle des ruminants. L'interprétation du leucogramme est donc variable selon l'espèce considérée. Ainsi, en cas de foyer inflammatoire aigu (mammites ou métrite par exemple), les vaches présentent généralement une neutropénie, puisque la réponse de leur organisme est plus lente. A l'inverse, chez le chien, la neutropénie liée à un état inflammatoire n'est observée que si la consommation des cellules est sévère et elle doit être considérée comme une urgence (Thrall, 2012 ; Lallemand et Rannou, 2014).

De plus, le type d'inflammation a une influence sur la concentration sanguine des neutrophiles. Ainsi une péritonite aiguë est un site inflammatoire qui peut consommer de nombreux neutrophiles et dépasser les capacités régénératives de la moelle, entraînant une neutropénie avec virage à gauche. A l'inverse, les lésions inflammatoires chroniques circonscrites, telles qu'un pyomètre ou un abcès, représentent un stimulus permanent pour la moelle osseuse, d'où une production de neutrophiles élevée. Cependant, la consommation des neutrophiles reste généralement limitée dans ces sites inflammatoires « fermés », expliquant la neutrophilie, qui peut atteindre 100 000 cellules par microlitre chez le chien (Thrall, 2012).

vi. Neutropénie

La neutropénie est définie par une numération sanguine de neutrophiles inférieure à 3 000 cellules/ μ L chez le chien et 2 500 chez le chat. Les mécanismes principaux de la neutropénie sont les suivants :

- Diminution de la production par la moelle osseuse,
- Margination : Migration des cellules vers la réserve marginale vasculaire,
- Augmentation de la diapédèse,
- Destruction sanguine des neutrophiles.

Une diminution de la production cellulaire par la moelle osseuse peut elle-même avoir diverses origines. Le nombre de cellules souches peut être diminué, leur maturation peut être perturbée. La libération des neutrophiles matures par la moelle osseuse peut également être diminuée (Harvey, 2012).

Le tableau suivant présente les principales causes et les mécanismes de la neutropénie. La liste n'est cependant pas exhaustive.

Tableau 7 : Causes et mécanismes d'une neutropénie

Neutropénie	
Causes	Mécanismes
Médicaments : chimiothérapie, œstrogènes (<i>chien</i>), griséofulvine (<i>chat</i>), céphalosporines	Diminution de la granulopoïèse
Infection à tropisme médullaire : ehrlichiose (<i>chien, cheval</i>), FeLV, parvovirus (<i>chien, chat</i>)	Diminution de la granulopoïèse
Nécrose médullaire, myélofibrose, ostéopétrose, leucémie, lymphosarcome, aplasie médullaire	Diminution de la granulopoïèse
Inflammation ou infection (septicémie, endotoxémie, pyothorax, parvovirose, etc.)	Diapédèse et consommation augmentées, demi-vie diminuée
Neutropénie à médiation immune cortico-sensible	Diapédèse augmentée
Anaphylaxie, endotoxémie	Margination

D'après Schultze, 2010 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012.

2. Granulocytes éosinophiles

a. Morphologie normale des granulocytes éosinophiles

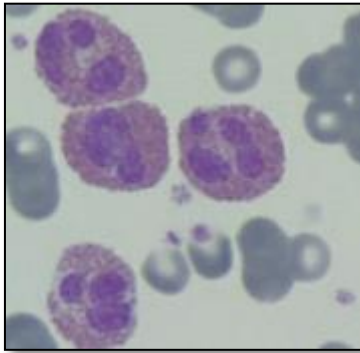
Les granulocytes éosinophiles portent ce nom en raison de l'affinité de leurs granulations pour des colorants acides comme l'éosine, présente dans les colorations de type Romanowsky. Les éosinophiles participent à la protection de l'organisme contre les parasites, notamment les stades larvaires, et sont impliqués dans les réactions allergiques.

La morphologie des éosinophiles est variable selon l'espèce. Ils sont plus grands que les neutrophiles et sont généralement peu nombreux sur le frottis d'un carnivore domestique en bonne santé. Leur cytoplasme est transparent à légèrement basophile. Il contient de nombreuses granulations roses, en forme de bâtonnet chez le chat (figure 68). Chez le chien, les granulations cytoplasmiques sont généralement sphériques et de taille variable (figure 69). Dans de rares cas, le granulocyte éosinophile de chien contient une unique granulation de grande taille. Chez le Greyhound, une dégranulation des éosinophiles est possible durant la coloration, ce qui donne un aspect vacuolisé aux cellules sur le frottis.

Leur noyau est moins lobulé que celui des neutrophiles et présente généralement deux lobes. La chromatine est moins condensée que dans les neutrophiles matures (Walker, 2006 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

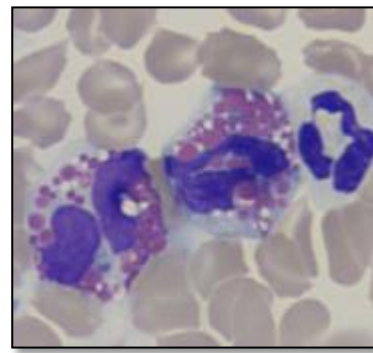
Enfin, certaines granulations intactes sont parfois expulsées hors de la cellule et observables sur le fond du frottis, notamment chez le chien et le chat (Walker, 2006).

[Figure 68](#) : Granulocytes éosinophiles de chat



MGG, obj x50

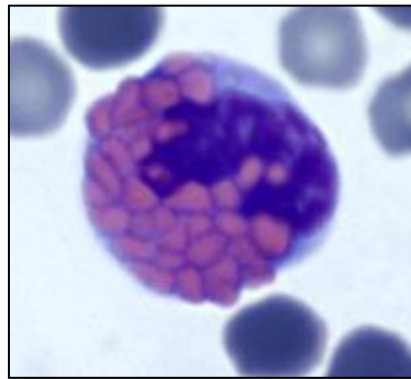
[Figure 70](#) : Deux granulocytes éosinophiles et un neutrophile de chien



MGG, obj x50

Chez les chevaux, les granulocytes éosinophiles ont des granulations volumineuses plutôt orangées, qui peuvent se superposer au noyau (figure 70). Les ruminants ont quant à eux de petits éosinophiles, avec de nombreuses petites granulations rondes (Walker, 2006 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

[Figure 69](#) : Granulocyte éosinophile de cheval



MGG, obj x100

b. Modifications morphologiques des granulocytes éosinophiles

Les modifications de morphologie des granulocytes éosinophiles sont beaucoup moins nombreuses que celles des neutrophiles, lors de l'observation d'un frottis sanguin au microscope optique.

La présence d'éosinophiles immatures (non segmentés le plus souvent, parfois des métamyélocytes) est possible, mais ils sont difficiles à identifier et ont peu d'influence clinique. Grondin *et al.* décrit en 2007 une hyposegmentation des éosinophiles lors d'anomalie de Pelger-Huët chez un cheval Arabe. Dans ce cas, la chromatine nucléaire est condensée. De plus, la présence d'*Ehrlichia* ou d'*Anaplasma* dans le cytoplasme de granulocytes éosinophiles de chevaux a été décrite par Madigan et Gribble en 1987.

c. Modifications du nombre de granulocytes éosinophiles

L'augmentation du nombre de granulocytes éosinophiles dans la circulation sanguine est une éosinophilie. Elle est définie par une concentration d'éosinophiles

supérieure à 1 300 cellules/ μ L chez le chien (Latimer et Prasse, 2003, cité par Schultze, 2010) et supérieure à 750-1 500 éosinophiles / μ L chez le chat (Valenciano *et al.*, 2010). A l'inverse, une diminution du nombre de granulocytes éosinophiles est une éosinopénie. Cependant, le nombre de granulocytes éosinophiles est proche de zéro pour de nombreux carnivores en bonne santé. Ceci rend difficile l'identification d'une éosinopénie. De plus, l'éosinopénie a peu de valeur clinique. Le tableau suivant regroupe les causes d'éosinophilie et les quelques facteurs de risque identifiés d'éosinopénie.

Tableau 8 : Causes d'une éosinophilie et d'une éosinopénie

Éosinophilie		Éosinopénie
Parasitisme		Glucocorticoïdes (<i>hypercorticisme, exogènes</i>)
Hypersensibilité locale Inflammation	Dermatite par allergie aux piqûres de puces Asthme félin	Catécholamines
Complexe granulome éosinophilique félin		
Myosite éosinophilique		
Gastro-entérite éosinophilique		
Panostéite éosinophilique		
Certains syndromes paranéoplasiques canins (<i>lymphome, mastocytome, thymome</i>)		

D'après Latimer et Prasse (2003) cité par Schultze (2010) ; Young et Meadows, 2010 ; Harvey, 2012.

La production de granulocytes éosinophiles est augmentée par la présence d'interleukine 5 (IL-5), qui est produite par des cellules T. Ces cellules T sont généralement stimulées par des antigènes parasitaires ou des allergènes. Le parasitisme, interne ou externe, est ainsi la première cause d'éosinophilie chez le chien. Concernant les endoparasites comme les nématodes, l'éosinophilie est plus marquée lorsque ces parasites migrent dans les tissus que lorsqu'ils sont dans la lumière intestinale. Une éosinophilie peut également être observée lors d'une inflammation ou d'une réaction d'hypersensibilité locale dans un tissu épithélial riche en mastocytes comme la peau, les poumons, le tube digestif ou l'appareil reproducteur (Schultze, 2010 ; Young et Meadows, 2010 ; Harvey, 2012).

3. Granulocytes basophiles

a. Morphologie normale des granulocytes basophiles

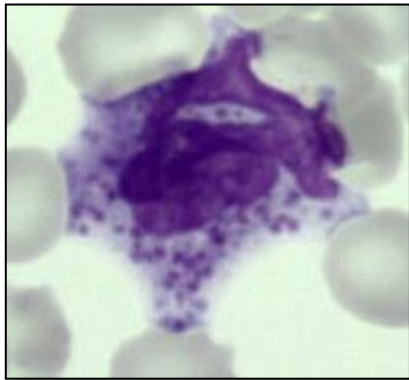
Les granulocytes basophiles participent notamment aux réactions d'hypersensibilité, mais leur rôle est encore mal connu à ce jour. Ce sont les cellules sanguines qui transportent le plus d'histamine.

Ils ont un cytoplasme bleu pâle à légèrement violet. Leur noyau est moins segmenté que celui des neutrophiles, assez long avec l'aspect d'un ruban. Comme leur nom l'indique, ils contiennent des granulations à forte affinité pour les colorants basiques, c'est-à-dire le bleu dans les colorations de routine (figure 71). Ces cellules sont plus grandes que les neutrophiles, d'un diamètre similaire à celui des éosinophiles. Ce sont les leucocytes les plus rares sur un frottis de carnivore

domestique en bonne santé. Ils sont donc rarement inclus dans la formule leucocytaire manuelle (Pohlman, 2010 ; Thrall, 2012).

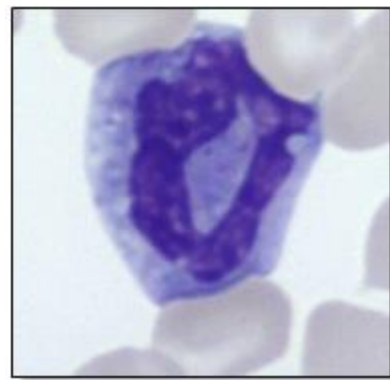
La morphologie et le nombre des granulocytes basophiles sont variables selon l'espèce considérée. Chez le chien, les basophiles ont un petit nombre de granulations, qui apparaissent violet foncé. Ce faible nombre de granulations peut rendre difficile la diagnose (figure 72) mais l'identification cellulaire reste possible grâce à la taille, la couleur du cytoplasme et l'aspect en ruban du noyau.

Figure 71 : Granulocyte basophile de chien



MGG, obj x100

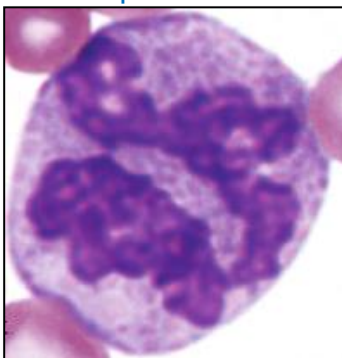
Figure 72 : Granulocyte basophile avec peu de granulations



Chien, MGG, obj x100

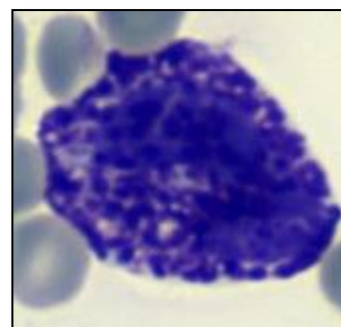
Chez le chat, les granulocytes basophiles ont de nombreuses granulations de forme ronde à ovale, généralement lavande pâle ou gris. Elles occupent tout l'espace cytoplasmique, ce qui donne un aspect « mangé aux mites » au noyau (figure 73). Chez les ruminants et le porc, les granulations sont très nombreuses et peuvent gêner l'observation des contours du noyau. Les basophiles des chevaux présentent un nombre variable de granulations cytoplasmiques, de couleur violette, qui peuvent se superposer au noyau (figure 74) (Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

Figure 74 : Granulocyte basophile de chat



Wright-Giemsa, obj x100
(Photo : Harvey, 2012)

Figure 73 : Granulocyte basophile de cheval



MGG, obj x100

b. Modifications morphologiques des granulocytes basophiles

La présence de basophiles immatures sur un frottis est possible. Elle est cependant rarement observée, car le noyau est souvent difficile à discerner, sauf chez le chien. En revanche, en cas de basophilie sévère, il est utile d'observer la morphologie nucléaire et de rechercher un virage à gauche. Chez le chien, le virage à gauche est généralement plus marqué en cas de leucémie basophilique chronique que lors d'une basophilie inflammatoire (MacEwen *et al.*, 1975 cité par Harvey, 2012 ; Mears *et al.*, 1997).

Des inclusions cytoplasmiques dans les basophiles sont également possibles, telles que les morulas de Rickettsie décrites chez un chien par Harvey en 2012.

c. Modifications du nombre de granulocytes basophiles

L'augmentation du nombre de granulocytes basophiles, la basophilie, est un phénomène assez rare chez les Mammifères. Elle accompagne généralement une éosinophilie et est souvent associée à des modifications des immunoglobulines de type E. Le tableau 9 regroupe les causes connues de basophilie. D'autre part, comme la numération sanguine des basophiles est physiologiquement faible et que l'intervalle de référence comprend zéro, il est très difficile de diagnostiquer une basopénie avec les outils actuels.

Tableau 9 : Causes de la basophilie

Basophilie	
Réaction allergique	Médicamenteuse, alimentaire, respiratoire, piquûre d'insecte.
Parasitisme	Puces, tiques, parasites gastro-intestinaux, parasites vasculaires.
Leucémie basophilique (<i>rare</i>)	
Thrombocythémie	
Syndrome paranéoplasique (<i>mastocytome, polype rectal, thymome</i>)	
Granulomatose lymphomatoïde pulmonaire	

D'après Pohlman, 2010 ; Schultze, 2010 ; Harvey, 2012.

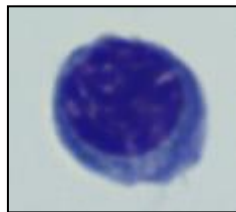
B. Lymphocytes

Les lymphocytes sont le second type leucocytaire circulant le plus fréquent, après les granulocytes neutrophiles. Seuls les ruminants et les jeunes carnivores domestiques de moins de six mois ont davantage de lymphocytes que de neutrophiles dans la circulation sanguine. Les lymphocytes observés sur un frottis sanguin appartiennent à différentes sous-populations, dont les lymphocytes T qui interviennent dans l'immunité à médiation cellulaire, et les lymphocytes B qui participent à l'immunité à médiation humorale. Ils sont cependant impossibles à différencier à l'examen du frottis ou avec les méthodes disponibles en routine en laboratoire vétérinaire (Reagan *et al.*, 2008 ; Thrall, 2012).

1. Morphologie normale des lymphocytes

Les lymphocytes sont généralement des cellules rondes, au noyau rond à ovale, parfois dentelé. Ils contiennent peu de cytoplasme, qui est bleu pâle, quasiment transparent. La quantité de cytoplasme et la taille des lymphocytes sont cependant variables : le diamètre des lymphocytes varie de un à trois fois celui des hématies, parfois quatre chez les bovins. On observe une prédominance des petites cellules chez les carnivores domestiques (figure 75). Les petits lymphocytes présentent une faible quantité de cytoplasme et leur noyau est très coloré. Leur chromatine a un aspect de verre dépoli, en alternance avec des amas plus denses. Certaines espèces comme les ruminants possèdent également des lymphocytes moyens à grands, qui ont souvent davantage de cytoplasme que les petits lymphocytes. Le cytoplasme peut alors avoir un aspect légèrement basophile et la chromatine est souvent plus condensée. Les grands lymphocytes ne doivent pas être confondus avec des monocytes ou des cellules néoplasiques (Walker, 2006 ; Reagan *et al.*, 2008 ; Thrall, 2012).

[Figure 75](#) : Petit lymphocyte de chat



MGG, obj x100

Une petite proportion des lymphocytes circulants contient des granulations cytoplasmiques éosinophiles, généralement disposées autour du noyau. Ces lymphocytes sont appelés lymphocytes granuleux. Ces lymphocytes sont de taille moyenne à grande, avec une quantité de cytoplasme supérieure à celle des petits lymphocytes. Les grands lymphocytes granuleux sont plus fréquents chez les ruminants (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

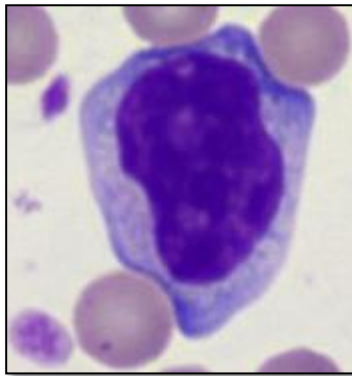
2. Modifications morphologiques des lymphocytes

a. Lymphocytes réactifs

Les lymphocytes réactifs sont présents en petit nombre chez un animal sain, mais leur nombre augmente suite à une stimulation antigénique. On observe alors une

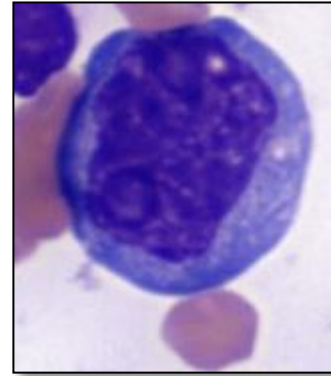
prolifération et des modifications morphologiques des lymphocytes : leur taille augmente, la basophilie du cytoplasme s'accroît jusqu'à un aspect bleu-noir, la forme du noyau devient plus irrégulière (figures 76 et 77). La basophilie intense s'explique par le nombre élevé de ribosomes et l'augmentation de la synthèse protéique (Walker, 2006 ; Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012).

[Figure 76](#) : Lymphocyte activé de chien



MGG, obj x100

[Figure 77](#) : Lymphocyte activé de chat



MGG, obj x100

Les lymphocytes réactifs doivent être distingués des monocytes et des cellules néoplasiques. De plus, certains lymphocytes réactifs peuvent avoir un aspect similaire à celui des plasmocytes, qui ne sont pas présents dans le sang de façon physiologique. Les lymphocytes similaires aux plasmocytes ont une grande quantité de cytoplasme bleu foncé à bleu-vert, avec souvent une grande zone périnucléaire pâle, qui correspond à l'appareil de Golgi. Cette zone périnucléaire s'appelle un archoplasme. Le noyau de ces cellules est rond, avec une chromatine hétérogène, très dense par endroits et claire à d'autres endroits (Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012).

b. Vacuoles, granulations et inclusions des lymphocytes

Le cytoplasme des lymphocytes peut contenir des vacuoles de petite taille lors de trouble héréditaire du stockage lysosomal. Cette anomalie est retrouvée dans différentes formes de mucopolysaccharidose (formant aussi des vacuoles dans les neutrophiles), de mannosidose ou de gangliosidose notamment (Thrall, 2012).

Certaines de ces anomalies héréditaires du stockage lysosomal peuvent également entraîner la formation de granulations basophiles au sein du cytoplasme des lymphocytes, qui ne doivent pas être confondues avec des lymphocytes granuleux présents de façon physiologique (Haskins *et al.*, 1991 ; Neer *et al.*, 1995).

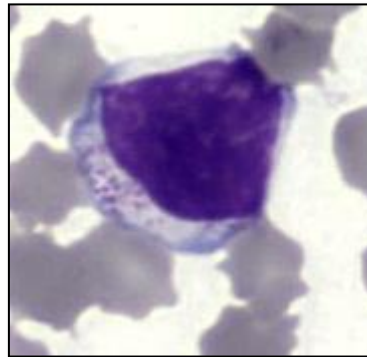
Enfin, les lymphocytes peuvent contenir des inclusions infectieuses, comme le virus de la maladie de Carré notamment ou des morulas d'*Ehrlichia canis* chez le chien (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

c. Grands lymphocytes granuleux tumoraux

Des lymphomes à grands lymphocytes granuleux sont décrits chez le chat et le chien. Ces lymphocytes contiennent de grandes granulations magenta dans leur cytoplasme (figure 78) (Darbès *et al.*, 1998). La plupart de ces lymphocytes provient d'une tumeur intestinale composée de lymphocytes T. Un lymphome à grands

lymphocytes granuleux est généralement de mauvais pronostic quand il est diagnostiqué chez un chat (Harvey, 2012). D'autres néoplasies sont rapportées, notamment la leucémie à grands lymphocytes granuleux chez le cheval (Kramer *et al.*, 1998) .

Figure 78 : Lymphocyte à grains



Chat, MGG, obj x100

d. Lymphocytes blastiques

Les lymphocytes blastiques sont de grandes cellules lymphoïdes, précurseurs des lymphocytes. Ils ont un grand noyau, qui contient un à plusieurs nucléoles et une chromatine très fine. Leur cytoplasme est abondant et bleu-foncé. Si des lymphocytes blastiques sont aisément observés sur le frottis sanguin, une néoplasie doit être suspectée (Reagan *et al.*, 2008 ; Schultze, 2010).

3. Modifications du nombre de lymphocytes

a. Lymphocytose

Le nombre de lymphocytes circulants est variable selon l'âge et selon l'espèce. Les jeunes de certaines espèces comme les chevaux ont une numération sanguine de lymphocytes inférieure à celle des adultes, tandis que pour des espèces comme le chat, on observe le phénomène inverse (Harvey, 2012).

Une lymphocytose est une augmentation de la concentration sanguine des lymphocytes. Ce processus est beaucoup moins fréquent que la neutrophilie. La lymphocytose est la conséquence de trois phénomènes principaux : la réponse physiologique aux catécholamines libérées en cas d'excitation ou de peur, une stimulation antigénique chronique ou un trouble lymphoprolifératif. Le tableau 10 regroupe les différentes causes recensées de lymphocytose. Une lymphocytose physiologique peut atteindre jusqu'à 12 000 lymphocytes/ μ L chez le chien et 20 000 lymphocytes/ μ L chez le chat. Pour écarter cette hypothèse, l'idéal est de refaire une ponction veineuse le lendemain sur un animal calme ou sédaté. Si la lymphocytose persiste sur un animal calme, une origine pathologique est à privilégier (Schultze, 2010 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

Tableau 10 : Causes d'une lymphocytose

Lymphocytose	
Lymphocytose physiologique transitoire (adrénaline)	Surtout chez le chat et le cheval Rare chez le chien, sauf chez les chiots
Stimulation antigénique chronique	Parasitaire <i>Trypanosoma</i> , <i>Spirocerca lupi</i> (chien) cœnurose (ovins) leishmaniose (chien) babésiose (chien)
	Bactérienne Mycoplasmosse (chat) Ehrlichiose subclinique (chien)
	Virale FeLV (chat) Leucose enzootique bovine Virus de l'arthrite-encéphalite (caprins)
Néoplasie lymphoïde	Leucémie lymphocytaire (aiguë ou chronique) Lymphome avec atteinte de la moelle osseuse Thymome Leucémie lymphoblastique aiguë
Autres causes	Anémie hémolytique à médiation immune (chat) Fragilité érythrocytaire (Somali, Abyssin) Hypocorticisme Traitement au méthimazole

D'après Schultze, 2010 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012.

b. Lymphopénie

La lymphopénie est une diminution de la concentration sanguine des lymphocytes. Elle est définie par certains auteurs comme Schultze (2010) par une concentration sanguine inférieure à 400 lymphocytes/ μ L chez le chien et 1 500 lymphocytes/ μ L chez le chat adulte. La cause la plus fréquente de lymphopénie est l'augmentation de la concentration sanguine des glucocorticoïdes. Cette augmentation peut être d'origine endogène lors d'un stress (douleur, températures extrêmes), d'un hypercorticisme ou d'un désordre systémique sévère, ou d'origine exogène. Ces glucocorticoïdes entraînent une redistribution des lymphocytes dans l'organisme, par séquestration dans les nœuds lymphatiques ou apoptose cellulaire précoce.

Une lymphopénie peut également être observée lors de la phase aiguë d'une infection bactérienne, comme lors d'une septicémie ou d'une endotoxémie. Cependant, la lymphopénie est plus fréquente lors d'une infection virale aiguë. Elle est alors généralement associée à une neutropénie. Certains virus comme le virus de la maladie de Carré, le virus de l'hépatite de Rubarth ou les parvovirus peuvent en effet détruire les lymphocytes et entraîner une atrophie des tissus lymphoïdes.

Par ailleurs, les lymphocytes peuvent parfois être séquestrés dans les nœuds lymphatiques après une stimulation antigénique ou par obstruction du flux lymphatique (inflammation granulomateuse disséminée, néoplasie). Cette séquestration des lymphocytes se traduit par une lymphopénie sur la NFS. Une lymphopénie peut également être la conséquence de la perte de liquides riches en lymphocytes dans la lumière intestinale (entéropathie, lymphangiectasie, ulcération intestinale ou entérite

granulomateuse) ou lors de la création d'un troisième secteur, comme un chylothorax ou un chylopéritoine.

Enfin, une lymphopénie peut dans de rares cas avoir une origine congénitale. En effet, il existe un syndrome d'immunodéficience combinée chez le poulain Arabe et chez le Jack Russell Terrier, ainsi qu'une déficience combinée des lymphocytes T et B chez le Basset Hound (Schultze, 2010 ; Harvey, 2012).

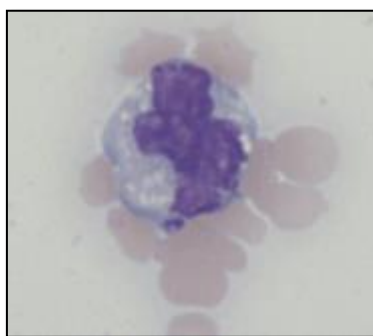
C. Monocytes

Les monocytes appartiennent à la lignée des phagocytes mononucléés. Après migration dans les tissus de l'organisme, ils se différencient en cellules histiocytaires, notamment en macrophages. Cette lignée cellulaire peut phagocyter des bactéries et des micro-organismes de grande taille comme des levures ou des protozoaires. Elle participe également à l'élimination de cellules endommagées et de débris cellulaires. Les phagocytes mononucléés jouent aussi le rôle de cellules présentatrices d'antigènes (Thrall, 2012).

1. Morphologie normale des monocytes

Les monocytes sont les leucocytes les plus grands sur un frottis sanguin, avec un diamètre de 15 à 20 μm , soit le diamètre de trois à quatre hématies, voire plus (Reagan *et al.*, 2008). Leur aspect est assez conservé parmi les différentes espèces domestiques. Ils sont une quantité importante de cytoplasme, avec un *ratio* noyau sur cytoplasme proche de 1 (figure 79). Ils ont un noyau de forme très variable : il peut être rond, indenté, en forme de haricot, de U, ou avec des circonvolutions. La chromatine est peignée ou modérément dense. Le cytoplasme est bleu-gris et contient souvent des vacuoles de taille variable. Il peut parfois contenir de très petites granulations couleur lavande à rose (Walker, 2006 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

[Figure 79](#) : Monocyte de chien



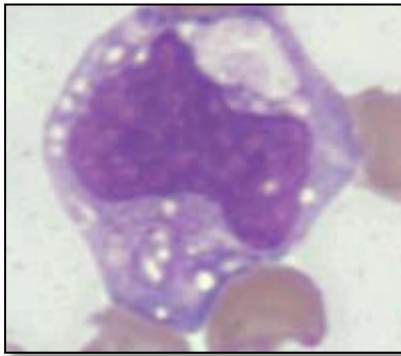
MGG, obj x50

Ce sont les cellules les plus difficiles à identifier pour un observateur inexpérimenté. Lorsque le noyau est en U, ils peuvent être confondus avec des neutrophiles immatures, notamment chez le chien. Il faut alors observer la couleur du cytoplasme : s'il est bleu-gris, c'est généralement un monocyte. La distinction peut être rendue encore plus délicate si les neutrophiles présentent des signes de toxicité cytoplasmique. De plus, lorsque le noyau est de forme ronde, les monocytes peuvent être confondus avec de grands lymphocytes, chez les ruminants notamment. Dans ce cas, l'observateur doit s'intéresser au *ratio* noyau sur cytoplasme, qui est supérieur à un pour les lymphocytes. La proportion des monocytes peut également être sous-estimée au cours de la numération leucocytaire manuelle, en raison de leur taille importante : ils ont en effet tendance à se concentrer en queue de frottis (Walker, 2006 ; Harvey, 2012).

2. Modifications morphologiques des monocytes

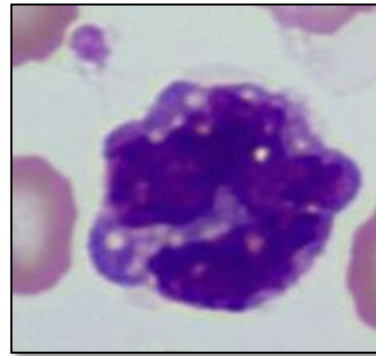
Les monocytes activés ou réactifs sont des monocytes qui présentent des modifications morphologiques telles qu'une vacuolisation importante du cytoplasme ou une augmentation de taille. Le monocyte activé de la figure 80 a eu une taille et une vacuolisation supérieures à celles du monocyte de la figure 81. Ces altérations morphologiques sont généralement observées en association avec une monocytose (cf. ci-dessous).

[Figure 80](#) : Monocyte activé



Frottis sanguin d'un chien infesté par des piroplasmes, MGG, obj x100

[Figure 81](#) : Monocyte activé de chien



MGG, obj x100

En conséquence de leur fonction de phagocytose, les monocytes peuvent aussi contenir différentes inclusions cytoplasmiques, telles que des granulations issues de granulocytes éosinophiles, des inclusions d'hémossidérine (noires en coloration de type Romanowsky, bleues au Bleu de Prusse) en cas d'anémie hémolytique ou d'inflammation sévère (Gaunt et Baker, 1986), ou encore des grains de mélanine lors de mélanome malin. Les monocytes peuvent également être infectés par des Rickettsies, comme *Ehrlichia canis* ou *Ehrlichia chaffensi* (Harvey, 2012). Des inclusions virales peuvent aussi être observées en cas de maladie de Carré. Elles se présentent sous la forme d'un ou deux corps éosinophiles cytoplasmiques, de taille variable (Walker, 2006).

3. Modifications du nombre de monocytes

L'augmentation de la concentration sanguine des monocytes est une monocytose. Elle est définie par une numération supérieure à 1 400 cellules/ μL chez le chien, à 850 cellules/ μL chez le chat. Elle accompagne généralement une réponse inflammatoire, qu'elle soit aiguë ou chronique, et est souvent associée à une neutrophilie. Une monocytose est donc fréquente en cas de processus suppuré ou nécrotique, de néoplasie, de pyogranulome, de traumatisme, d'hémorragie ou de maladie à médiation immune. Une monocytose peut parfois être associée à une concentration sanguine de glucocorticoïdes élevée, notamment chez le chien. En revanche, une monocytose est rarement l'unique modification du leucogramme (Schultze, 2010 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012).

Par ailleurs, des leucémies monocytaires et myélomonocytaires aiguës sont décrites chez l'animal (Rossi *et al.*, 2009). L'individu présente alors une monocytose. Chez le chien, des cas de monocytose accompagnant un sarcome histiocytaire sont rapportés dans la littérature (Kohn *et al.*, 1993, cités par Harvey, 2012).

La concentration sanguine des monocytes est faible à nulle chez la plupart des animaux domestiques en bonne santé. Le terme de monocytopenie n'est donc que rarement utilisé et ne possède pas de signification clinique (Harvey, 2012).

IV. Thrombocytes

Les thrombocytes, plus communément appelés les plaquettes, participent à l'hémostase primaire lors de lésions de l'endothélium vasculaire. Leur agrégation, ainsi que les protéines qu'ils libèrent, conduisent à la formation du clou plaquettaire, qui est ensuite complété par un dépôt de fibrine. Les thrombocytes représentent le deuxième type cellulaire le plus fréquent dans la circulation sanguine, après les hématies.

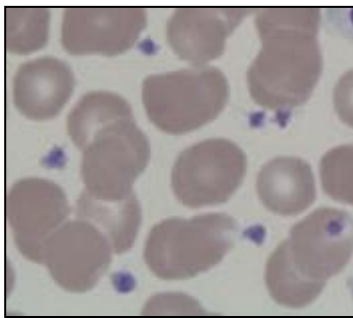
A. Morphologie normale des thrombocytes

Chez les Mammifères, les thrombocytes sont de petits fragments cellulaires anucléés (figure 86). Ils proviennent de la fragmentation d'un mégacaryocyte, qui peut générer plusieurs milliers de thrombocytes. Les thrombocytes ont une forme ronde à ovale sur le frottis, celle d'un disque lors d'observation en trois dimensions (quand ils ne sont pas activés).

Le cytoplasme des thrombocytes est transparent à légèrement bleuté et contient généralement un amas central de granulations rouges à violettes (figure 82). La coloration des thrombocytes de chevaux est souvent moins intense au MGG, mais elle est plus soutenue en coloration de type Diff-Quick.

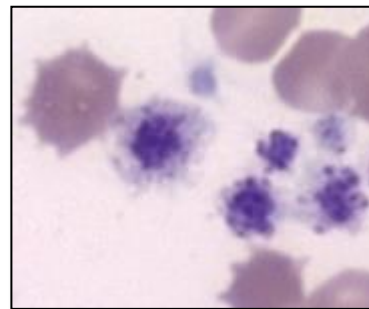
La morphologie des thrombocytes est assez conservée au sein des espèces domestiques de Mammifères. Ils mesurent généralement de 2 à 4 μm de diamètre, bien que leur taille soit plus variable chez les chats (de 2 à 6 μm , voire plus : figure 83). De plus, les thrombocytes des carnivores domestiques sont de plus grande taille que ceux des chevaux et des ruminants (Reagan et al., 2008 ; Harvey, 2012).

[Figure 82](#) : Thrombocytes de chien entre des hématies



MGG, obj x50

[Figure 83](#) : Thrombocytes de taille variable chez un chat



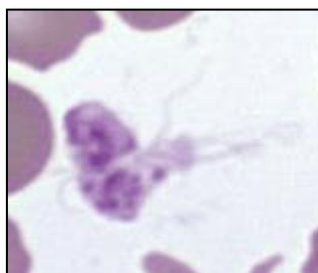
MGG, obj x100

B. Modifications morphologiques des thrombocytes

1. Thrombocytes activés

Les thrombocytes partiellement activés perdent leur forme de disque et présentent des pseudopodes, c'est-à-dire de petites projections membranaires, qui leur confèrent une forme d'araignée (figure 84). Lorsque l'activation plaquettaire s'accroît, les granulations cytoplasmiques ont tendance à se regrouper au centre de la cellule, sous l'action du cytosquelette. A ce stade, une dégranulation des thrombocytes est possible (Harvey, 2012). Suite à l'activation, les thrombocytes s'agglutinent souvent, jusqu'à former un amas plaquettaire sur le frottis sanguin.

[Figure 84](#) : Thrombocyte activé avec pseudopodes

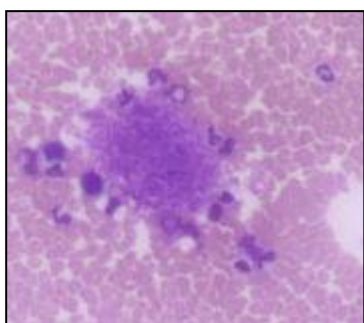


Frottis sanguin de chien, MGG, obj x100

L'activation *in vitro* des thrombocytes est déclenchée par une ponction veineuse difficile, un mélange insuffisant du prélèvement avec l'anticoagulant ou plus rarement lors du contact avec l'anticoagulant (principalement l'EDTA). Les thrombocytes des félins sont particulièrement sensibles à l'activation par rapport aux autres espèces de Mammifères. Les amas plaquettaires sont donc très fréquents dans ces espèces (Russel, 2010 ; Harvey, 2012).

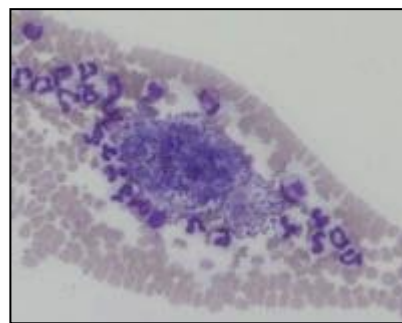
Les amas plaquettaires se situent souvent en queue de frottis (figures 85 et 86), où ils sont repoussés lors de l'étalement en raison de leur grande taille. Ces agrégats peuvent fausser le comptage plaquettaire lors de la lecture du frottis ainsi que celui de l'analyseur automatique, conduisant à une pseudothrombocytopenie. Toute suspicion de thrombocytopenie doit donc être confirmée par la recherche d'amas plaquettaires, notamment à l'extrémité de la lame. Il peut également être préférable de réaliser un nouveau prélèvement et de choisir le citrate comme anticoagulant (Walker, 2006 ; Reagan *et al.*, 2008 ; Russel, 2010).

[Figure 85](#) : Amas plaquettaire



Frottis sanguin de Chien, MGG, obj x10

[Figure 86](#) : Amas plaquettaire et leucocytose



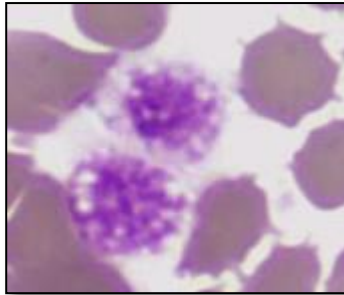
Queue d'un frottis sanguin de chat, MGG, obj x10

2. Macrothrombocytes

De grands thrombocytes, appelés macrothrombocytes ou macroplaquettes, peuvent être libérés par la moelle osseuse. Ces cellules géantes sont de diamètre comparable ou supérieur à celui des hématies (figures 87 et 88). La présence de macrothrombocytes en cas de thrombocytopenie est le plus souvent signe d'une thrombocytopoïèse augmentée (lors de consommation ou de destruction élevée), ou plus rarement d'une néoplasie myéloïde (Harvey, 1981). Chez le chat, Boyce et son équipe décrivent en 1986 une association entre une macrocytose plaquettaire et une

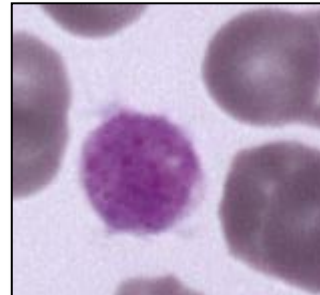
infection par le FeLV. D'autre part, la présence de macrothrombocytes est possible chez les chiens Cavalier King Charles spaniel qui sont atteints de thrombocytopénie héréditaire (Davis *et al.*, 2008).

Figure 87 : Macrothrombocytes de chat



MGG, obj x100

Figure 88 : Macrothrombocyte de chien



MGG, obj x100

L'interprétation de la présence de macrothrombocytes est délicate chez le chat. En effet, les macrothrombocytes sont fréquents chez le chat en bonne santé (anisocytose physiologique) et ne sont pas systématiquement associés à une réponse de la moelle osseuse à une consommation périphérique (Reagan *et al.*, 2008).

3. Hypogranulation

Comme évoqué précédemment, les thrombocytes peuvent expulser leurs granulations cytoplasmiques suite à l'activation. La présence de thrombocytes dépourvus de granulations est également rapportée dans des cas de néoplasie myéloïde (Harvey, 1981).

4. Inclusions

Les thrombocytes peuvent être infectés par des Rickettsies, tout comme les autres lignées cellulaires sanguines. *Anaplasma platys*, autrefois appelée *Ehrlichia platys*, est le seul agent infectieux qui possède une affinité uniquement pour les thrombocytes. L'inclusion a la forme d'une morula bleue de quelques micromètres de diamètre, qui est composée de multiples petites structures appelées corps élémentaires (Harvey, 2011).

C. Modifications du nombre de thrombocytes

1. Thrombocytose

Une thrombocytose est une augmentation de la numération sanguine des thrombocytes par rapport aux valeurs de références de l'espèce considérée. Une thrombocytose peut être due à un artefact (pseudothrombocytose), à une modification de la distribution des thrombocytes dans l'organisme (thrombocytose physiologique transitoire) ou à une augmentation de la production de thrombocytes par la moelle osseuse (thrombocytopoïèse augmentée).

La pseudothrombocytose correspond à une numération plaquettaire augmentée de façon artificielle. Elle peut survenir lorsque des débris cellulaires sont comptés par l'automate comme des thrombocytes. Ces débris peuvent être des hématies hémolysées ou fragmentées ou des fragments de leucocytes, qu'ils soient

normaux ou tumoraux. L'observation du frottis sanguin permet d'infirmier rapidement l'hypothèse d'une pseudothrombocytose (Stokol, 2010).

L'augmentation de la thrombocytopoïèse peut être la conséquence de l'administration de molécules, de la libération de cytokines (thrombocytose réactive), d'un désordre hématopoïétique ou d'une atteinte héréditaire des mégacaryocytes (Stokol, 2010). Le tableau 11 présente les différentes causes de thrombocytose, classées selon leur mécanisme.

Tableau 11 : Etiologie et mécanismes de thrombocytose

Mécanismes	Causes	Affections
Augmentation de la thrombocytopoïèse	Administration de molécules	Vincristine
	Syndrome myéloprolifératif (<i>chronique ou aigu</i>)	Leucémie basophile chronique Leucémie myéloïde chronique Myélofibrose idiopathique chronique Polycythémie vraie Thrombocythémie essentielle
	Thrombocytose réactive	Anémie par carence en fer Infection Inflammation Réaction post-thrombocytopénie Néoplasie (mastocytome, carcinome épidermoïde) Traumatisme
Relargage dans la circulation	Contraction splénique	Adrénaline : exercice, excitation, traumatisme
	Absence de séquestration	Post-splénectomie
Pseudo-thrombocytose	Défaut de numération	Comptage de débris cellulaires (hématies ou leucocytes)

D'après Walker, 2006 ; Stokol, 2010 ; Harvey, 2012.

2. Thrombocytopénie

Une thrombocytopénie est une diminution de la numération des thrombocytes dans la circulation générale. Ce phénomène, déclenché dans de nombreuses circonstances, est bien plus fréquent que la thrombocytose. Les principaux mécanismes de thrombocytopénie sont une destruction précoce des thrombocytes, une consommation élevée pour la formation de thrombus, ainsi qu'une diminution de la production de ces cellules par la moelle osseuse. Quelques mécanismes moins fréquents sont possibles, tels qu'une séquestration des thrombocytes dans un organe ou une perte des thrombocytes lors d'une hémorragie externe massive. Le tableau de l'annexe 2 présente les causes d'une thrombocytopénie, classées selon leur mécanisme. Cette liste se veut la plus complète possible mais n'est pas exhaustive. De plus, les mécanismes impliqués sont souvent multiples (Russel, 2010 ; Harvey, 2012).

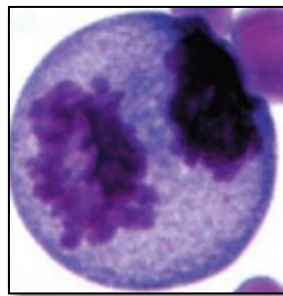
V. Cellules diverses et éléments infectieux extracellulaires

L'observation d'un frottis sanguin peut révéler la présence de parasites, de bactéries ou de cellules anormales, parfois néoplasiques. Les éléments de grande taille, tels que les parasites extracellulaires comme les microfilaires ou encore les éléments cellulaires anormaux, doivent être recherchés à l'objectif x10, lors du survol initial de l'ensemble de la lame. Ces éléments sont généralement situés en queue de frottis, où ils sont repoussés lors de l'étalement du frottis en raison de leur taille importante. D'autres éléments, comme des bactéries extracellulaires ou des noyaux expulsés de leur cellule, peuvent être observés lors de l'examen à plus fort grossissement de la lame.

A. Images de mitose

Les cellules en mitose sont des cellules en cours de division, dont les chromosomes sont visibles. Chez les Mammifères, les images de mitose sont rares sur un frottis sanguin. Leur observation est possible dans des cellules tumorales lors de néoplasie maligne (figure 89), mais également dans des érythroblastes en cas d'anémie régénérative, dans des lymphocytes en cours de différenciation ou dans des cellules activées du système des phagocytes mononucléés (Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012).

[Figure 89](#) : Figure de mitose
chez un chat avec une leucémie



Wright-Giemsa, obj x100 (Photo : Harvey, 2012)

B. Noyaux libres

Des noyaux libres, expulsés de leur cellule, peuvent être observés suite à la lyse des cellules lors de la préparation du frottis sanguin. La perte d'une membrane cellulaire et du cytoplasme rend la diagnose cellulaire impossible. Cependant, les lymphocytes sont les cellules les plus sensibles à la lyse lors de l'étalement. Lorsqu'un noyau libre est étalé sur le frottis, la chromatine peut se disperser, ce qui confère au noyau l'aspect d'une toile (Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012).

La présence d'une faible proportion de noyaux libres est possible suite à la préparation du frottis. Une augmentation de leur nombre, et donc du nombre de cellules lysées, est en revanche associée à une lipémie du prélèvement ou à une fragilité exacerbée des cellules, notamment en cas de néoplasie (Reagan *et al.*, 2008).

C. Images d'apoptose

L'apoptose des leucocytes, c'est-à-dire la mort cellulaire programmée, peut être observée sur un frottis sanguin. L'apoptose se traduit sur le frottis par l'observation de pycnose ou de caryorrhexis. La pycnose est une condensation extrême de la chromatine nucléaire, qui s'accompagne d'une réduction du volume cellulaire. La caryorrhexis est la fragmentation nucléaire qui découle de la pycnose. Ce phénomène d'apoptose est parfois rencontré *in vivo*, mais il est le plus souvent la conséquence d'un stockage prolongé du prélèvement sanguin avant la réalisation du frottis. La diagnose cellulaire est alors quasiment impossible (Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012).

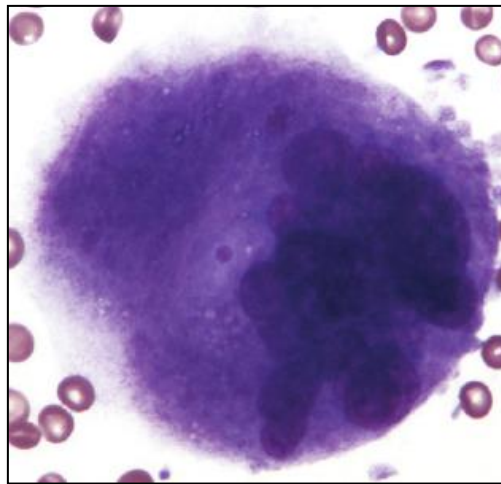
D. Cellules endothéliales

Des cellules endothéliales sont parfois détachées de la paroi vasculaire lors de la ponction veineuse. Observées ensuite sur le frottis, ces cellules sont en forme de fuseau et possèdent un noyau allongé (Harvey, 2012).

E. Mégacaryocytes

Les mégacaryocytes, cellules géantes précurseurs des thrombocytes, sont normalement situés près des sinus vasculaires de la moelle osseuse. Ils y subissent des divisions cellulaires, conduisant à la formation de prothrombocytes puis de thrombocytes. Les mégacaryocytes passent parfois dans la circulation générale avant leurs divisions et peuvent alors être observés sur un frottis sanguin (figure 90). Ils sont plus fréquents sur l'étalement du buffy coat que sur un frottis sanguin classique.

[Figure 90](#) : Photographie de mégacaryocyte



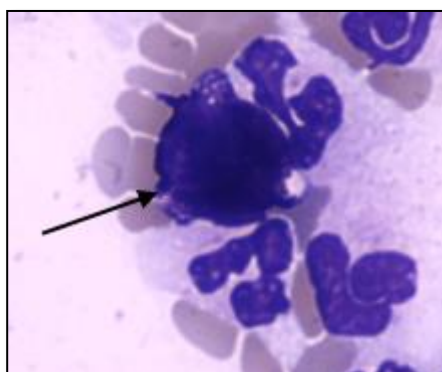
Frottis sanguin de chien, Wright-Giemsa, obj x 40 (Photo : Harvey, 2012)

La présence des mégacaryocytes dans la circulation est de courte durée : ils sont captés rapidement par les capillaires sanguins pulmonaires, où leurs divisions cellulaires se poursuivent. Les micromégacaryocytes, qui sont de plus petite taille, sont également rares dans le sang, sauf en cas de néoplasie myéloïde (Harvey, 2012).

F. Mastocytes

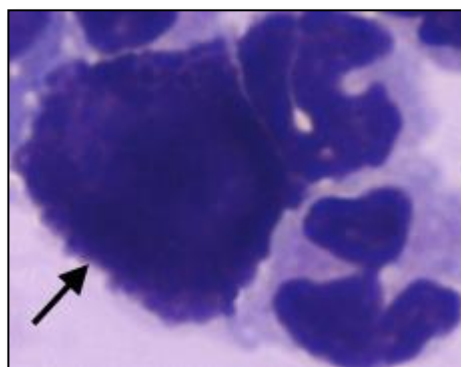
Les mastocytes sont des cellules rondes dont le cytoplasme contient de nombreuses granulations violettes qui masquent souvent le noyau, rond et en position central dans la cellule. Sur les figures 91 et 92, la densité des granulations est telle qu'elles sont difficiles à identifier, sauf en périphérie de la cellule. La coloration des granulations est parfois insuffisante lors d'utilisation de coloration Diff-Quick ou d'autres colorants aqueux.

[Figure 91](#) : Mastocyte de chien



MGG, obj x50

[Figure 92](#) : Mastocyte de chien



MGG, obj x100

Les mastocytes sont normalement situés dans les tissus et absents de la circulation sanguine. Une mastocytémie élevée (présence de mastocytes dans le sang) est généralement associée à une prolifération néoplasique des mastocytes, c'est-à-dire un mastocytome. Néanmoins, le diagnostic différentiel de la mastocytémie chez le chien comprend aussi l'inflammation, la nécrose et l'anémie fortement régénérative. Lorsque la mastocytémie est associée à un état inflammatoire, les mastocytes sont généralement peu nombreux, riches en granules et leur présence est transitoire (Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012). Chez le chat, une mastocytémie est presque toujours associée à un mastocytome disséminé (Garrett *et al.*, 2007).

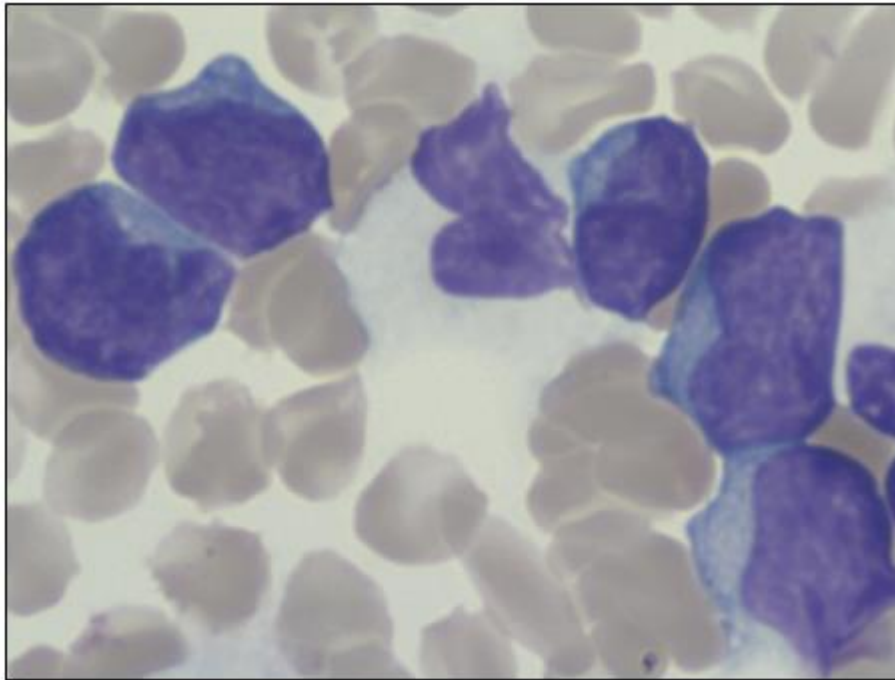
G. Cellules néoplasiques

Lors d'une prolifération néoplasique des cellules dans la moelle osseuse, celles-ci peuvent passer dans la circulation sanguine : il s'agit d'une leucémie. L'examen du frottis sanguin est souvent la première étape du diagnostic d'une leucémie. L'identification du type de leucémie est ensuite plus ou moins aisée selon le degré de différenciation des clones cellulaires. En cas de leucémie peu différenciée, on observe de nombreux blastes, qui sont les précurseurs des lignées cellulaires sanguines. Les blastes ont souvent un noyau rond à la chromatine lisse ou finement pointillée, avec un ou plusieurs nucléoles (figure 93). Leur aspect peut être assez similaire d'une lignée cellulaire à une autre, d'où la nécessité de réaliser d'autres examens complémentaires comme l'immunomarquage (immunohistochimie, cytométrie en flux) (Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012).

On distingue de nombreux types différents de leucémie, selon la lignée cellulaire concernée et selon le mode d'apparition des symptômes (leucémie aiguë ou chronique). Parmi les leucémies qui concernent les lymphocytes et leurs précurseurs,

on distingue notamment les leucémies lymphocytaires ainsi que les leucémies à grands lymphocytes granuleux. En cas de lymphome, dont le site primaire n'est pas la moelle osseuse mais les organes lymphoïdes secondaires comme les nœuds lymphatiques, la tumeur peut ensuite coloniser la moelle osseuse. Les lymphocytes blastiques peuvent alors passer dans la circulation sanguine et être retrouvés sur le frottis (Reagan *et al.*, 2008).

[Figure 93](#) : Photographie de cellules lymphomateuses



Frottis sanguin de chien, MGG, obj x100

Les néoplasies myéloïdes correspondent quant à elles aux proliférations clonales d'une ou plusieurs lignées cellulaires de la moelle osseuse, à l'exception de la lignée lymphoïde. Elles comprennent donc les lignées monocytaires, granulocytaires mais aussi érythrocytaires et plaquettaires. Bien que la classification des troubles myéloïdes soit en constante évolution en médecine humaine, leur classification en médecine vétérinaire reste principalement définie par la morphologie cellulaire. On recense notamment les syndromes myélodysplasiques (plus fréquents chez le chat), les leucémies myéloïdes aiguës et les leucémies myéloïdes chroniques (Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012).

H. Parasites extracellulaires

1. Microfilaires

Des larves de nématodes, les microfilaires, peuvent parfois être observées sur des frottis sanguins. Ce sont des parasites extracellulaires de grande taille (figure 94), qui s'observent principalement sur les marges ou en queue de frottis : ils mesurent quelques centaines de micromètres de long, sur plusieurs micromètres de large. Leur observation est donc possible dès l'objectif x10. Les principales espèces de microfilaires sont *Dirofilaria immitis* et *Dirofilaria repens* chez le chien, le chat et les canidés sauvages, présents notamment dans le Sud de la France, *Dipetalonema*

reconditum chez le chien aux Etats-Unis et *Setaria* chez les bovins et les chevaux (Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012).

Figure 94 : Photographie de microfilaire



Frottis sanguin de chien, MGG, obj x10

2. Trypanosomes

Les trypanosomes sont des protozoaires extracellulaires flagellés. Les espèces de trypanosomes sont nombreuses et leur pathogénicité est variable. Parmi les espèces non pathogènes, les plus fréquentes sont *Trypanosoma theileri* chez les bovins d'Europe, d'Amérique du Nord et d'Australie, et *Trypanosoma melophagium* chez le mouton. Il existe des espèces pathogènes de trypanosomes, qui parasitent les chevaux et les bovins des zones tropicales. Enfin, de nombreux chiens sont parasités par *Trypanosoma cruzi* en Amérique du Nord et en Amérique du Sud. Ils sont généralement asymptomatiques et les trypanosomes sont rarement observés (Reagan *et al.*, 2008 ; Harvey, 2012).

I. Bactéries extracellulaires

Des bactéries d'espèces variées peuvent être observées sur le fond d'un frottis sanguin. L'interprétation de cette observation doit cependant être prudente : il est important de distinguer les bactéries réellement présentes dans le sang du patient, de celles issues d'une contamination. Les bactéries contaminantes proviennent souvent d'un flacon de colorant (conservé ouvert trop longtemps par exemple), d'un tube de prélèvement non stérile ou d'un prélèvement à partir d'un cathéter (qui favorise la prolifération bactérienne).

Lorsque de nombreuses bactéries libres sont observées, il est important de vérifier la morphologie des granulocytes neutrophiles. La présence de granulocytes neutrophiles toxiques, vacuolisés, ou d'images de phagocytose bactérienne, est en faveur d'une bactériémie, voire d'une septicémie.

Parmi les espèces de bactéries plasmatiques recensées figurent les mycoplasmes. Lors de mycoplasmoses, les mycoplasmes peuvent se détacher de la membrane cellulaire des hématies et être libres sur le frottis, notamment lorsque l'anticoagulant utilisé est l'EDTA. Des spirochètes ont également été décrits sur des frottis lors d'infection à *Borrelia turicatae* et *Borrelia hermsii*, chez des chiens vivant aux Etats-Unis (Harvey, 2012).

CRÉATION DU SUPPORT PÉDAGOGIQUE MULTIMÉDIA

Nous avons étudié jusqu'ici les données bibliographiques disponibles en hématologie et nécessaires à l'élaboration d'un support pédagogique sur ce sujet. Nous allons à présent nous intéresser aux objectifs du projet ainsi qu'aux modalités pratiques de sa création.

I. Enseignement de l'hématologie à l'ENVA

L'enseignement de l'hématologie dispensé aux étudiants vétérinaires de l'ENVA est réparti sur plusieurs années du cursus. Le tableau 12 représente la répartition des 12 heures d'enseignement dédiées à l'hématologie. On distingue les cours magistraux (CM), qui permettent l'enseignement théorique, et les travaux dirigés (TD). Les TD se déroulent en groupes et permettent la mise en pratique des connaissances. Ils ont pour but d'entraîner les étudiants à la diagnose cellulaire et à l'analyse de lames en première année (A1), puis à la démarche clinique en troisième année (A3). Le TD de quatrième année (A4) se déroule dans un laboratoire du BioPôle et permet aux étudiants de réviser toutes les étapes, de la réalisation du frottis sanguin à sa lecture et son interprétation.

Tableau 12 : Enseignement de l'hématologie à l'ENVA

Année	Unité de Cours	Module	Cours
A1	Immunologie et Infectiologie générales	Histologie des Organes Lymphoïdes / Hématologie	4 heures : 2 CM d'1h 2 TD de 2 h
A3	Pathologie clinique	Hématologie	6 heures : 3 TD
A4	BioPôle et autopsies	Hématologie	2 heures : 1 TD

A ces heures d'enseignement se rajoutent deux heures de TD de parasitologie sur la diagnose des parasites sanguins en deuxième année. Enfin, depuis 2016, les étudiants ont librement accès à la salle VetSims, une plateforme de simulation médicale vétérinaire, où cinq ateliers d'hématologie sont mis à leur disposition. La répartition de ces heures d'enseignement va nous permettre de définir par la suite le public ciblé par ce projet.

II. Elaboration du projet pédagogique

A. Objectifs du projet

Ce projet à vocation pédagogique a pour objectif de compléter la formation déjà dispensée en hématologie. Au vu du nombre d'heures d'enseignement, le nombre de lames et de cellules observées par les étudiants est évidemment limité. Or comme nous l'avons vu dans la partie bibliographique, les éléments observables sur un frottis sanguin sont nombreux et leur interprétation peut être délicate. L'idée d'une base de données en hématologie est donc survenue, avec la mise à disposition de photographies de frottis sanguins. Cette idée s'est développée vers la création d'un outil d'auto-apprentissage à disposition des étudiants.

Ce projet a également pour objectif d'être interactif, voire ludique, ce qui augmente l'attractivité de l'outil et donc son utilisation par les étudiants. Il doit être facilement accessible et consultable.

B. Public ciblé

Ce projet est initialement à destination des étudiants vétérinaires de l'ENVA. Dès leur troisième année, ils ont reçu les enseignements nécessaires à l'utilisation de l'outil pédagogique. Ils peuvent alors vérifier leurs connaissances, s'entraîner à la diagnose cellulaire et compléter leur apprentissage. Les étudiants des promotions supérieures peuvent se servir de la base de données comme outil de révision avant ou pendant leurs rotations cliniques aux hôpitaux de l'ENVA.

Si le projet est approuvé, il pourra éventuellement être mis à disposition des vétérinaires diplômés, depuis la plateforme Alforpro. Il pourra alors servir d'outil de formation continue à distance.

C. Choix du support

Afin de répondre à ces objectifs, nous avons choisi de créer un support multimédia, permettant à la mise à disposition de photographies, de vidéos, ainsi que de textes explicatifs et de questionnaires. Pour que l'outil pédagogique soit accessible à tout moment au plus grand nombre, le choix s'est porté vers le site internet EVE de l'ENVA, qui est hébergé par la plateforme internet Moodle. Les étudiants ont en effet l'habitude d'utiliser cette plateforme, qu'ils consultent régulièrement au cours de leurs études. Ils peuvent s'y connecter à l'aide d'un identifiant et d'un mot de passe.

La page internet créée pourra être modifiée par la suite par les enseignants, qui pourront ajouter du contenu. Ainsi de nouveaux éléments pourront être incrémentés, comme des photographies issues d'espèces différentes ou de nouveaux cas cliniques. Les enseignants pourront aussi s'en servir, s'ils le souhaitent, pour contrôler les pré-requis exigés, avant la rotation au Biopôle ou dans les hôpitaux.

III. Création du support multimédia

Sur la plateforme EVE, les fichiers que l'administrateur peut ajouter s'appellent des ressources. Cela comprend notamment les documents, les photographies, les vidéos ou encore les liens externes vers d'autres sites web. L'administrateur de la page peut également créer des activités à disposition des utilisateurs, qui peuvent être des tests, des glossaires, des questionnaires ou encore des leçons.

A. Création des ressources

1. Préparation des lames

Les échantillons sanguins ont été prélevés aux hôpitaux de l'ENVA sur tube EDTA lors de demande d'hémogramme ou de frottis sanguin par les cliniciens. Les prélèvements ont ensuite été transférés au BioPôle de l'ENVA, accompagnés d'une demande d'analyse et des commémoratifs de l'animal prélevé. Les frottis sanguins ont été étalés manuellement, puis colorés au MGG par un automate. Chaque lame a été protégée par une lamelle, montée et collée par l'automate. Ceci permet leur conservation sur plusieurs années. Les frottis sanguins ont ensuite été lus par le docteur Isabelle Lagrange, praticienne hospitalière au BioPôle.

2. Réalisation des photographies

Les photographies utilisées dans ce projet ont été réalisées par le Dr Lagrange entre 2010 et 2017. Un ou plusieurs clichés ont été pris par frottis sanguin lorsque le cas semblait intéressant ou sur demande du clinicien. Le microscope utilisé est un Eclipse E200 de la marque Nikon, sur lequel est monté un appareil photographique Leica EC3 (figure 95). Les photographies sont ensuite transférées vers un ordinateur qui utilise le logiciel LasEz, également de la marque Leica.

[Figure 95](#) : Appareil photographique monté sur le microscope



Photo : Leica Microsystems

3. Traitement des photographies

Les photographies retenues pour être mises en ligne ont été traitées à l'aide du logiciel paint.net. C'est un outil de retouche photographique gratuit et téléchargeable en ligne. Tous les clichés ont été redimensionnés à la taille de 600 pixels de large, sur 450 pixels de hauteur. Cette étape diminue le poids des fichiers et assure un affichage correct des photographies une fois mises en ligne. Le contraste et la luminosité ont ensuite été calibrés. Le bruit de quelques clichés a été diminué lorsque le fond du frottis n'était pas uniforme (tâches de colorants par exemple). Enfin, des flèches ou traits de légendes ont été ajoutés aux clichés pour désigner une cellule ou un élément particulier.

4. Choix des cas cliniques

Quatre cas cliniques ont été choisis parmi une sélection de neuf cas préparés par le Dr Lagrange à destination des étudiants. Les quatre cas ont été sélectionnés pour leur intérêt pédagogique, pour le nombre de questions possibles, pour la qualité des clichés et la diversité des observations hématologiques (tableau 13).

[Tableau 13](#) : Cas cliniques sélectionnés

Animal	Espèce	Diagnostic
Mila	Chien	Parvovirose
Snow	Chien	Perforation de la vésicule biliaire
Ethan	Chien	Mastocytome métastatique
Shiva	Chat	Cardiomyopathie hypertrophique

Les données cliniques des animaux ont été récupérées sur le logiciel CLOVIS, base de données commune aux quatre écoles vétérinaires françaises, qui regroupe les dossiers des animaux examinés et traités.

B. Elaboration de la page EVE

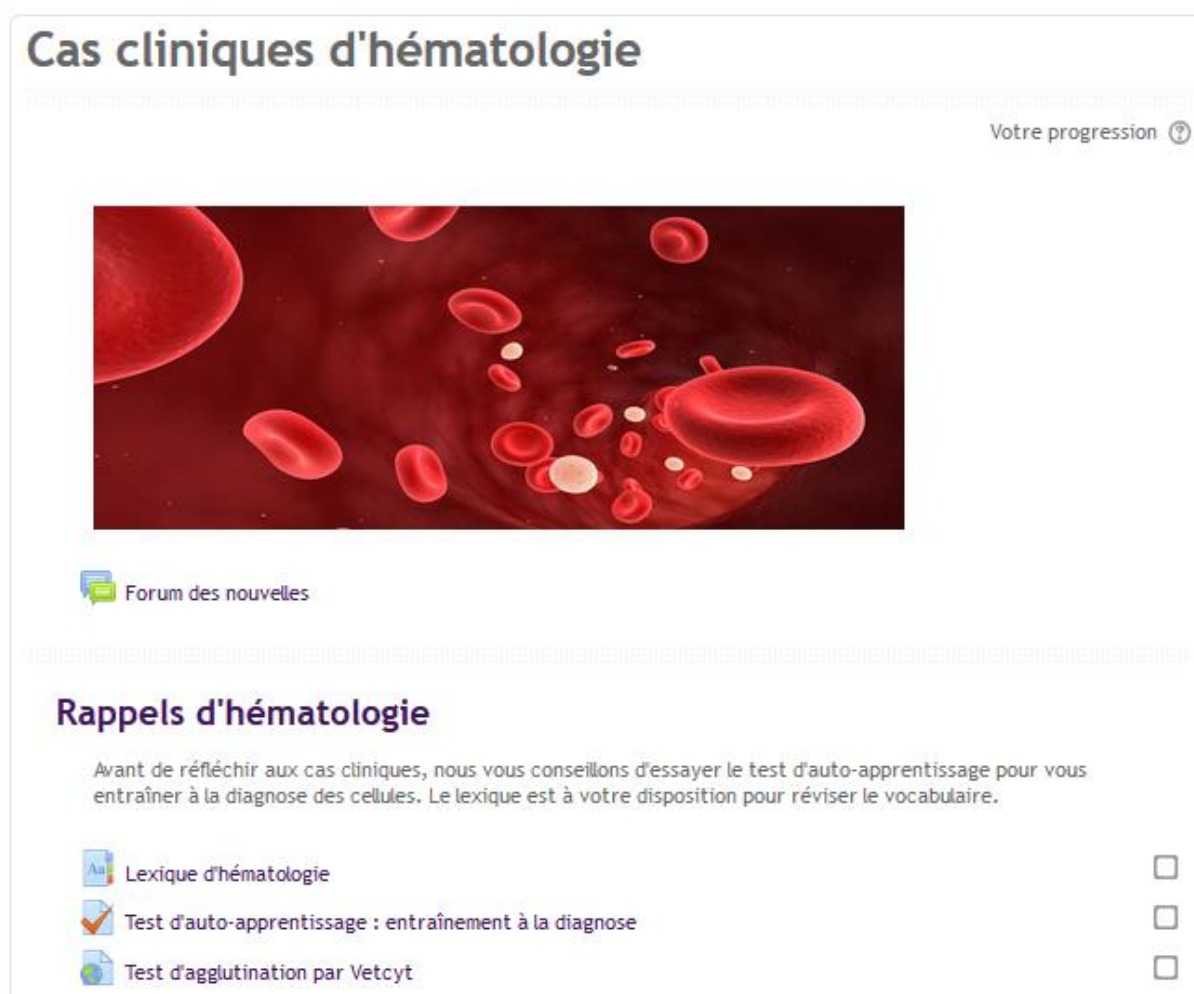
1. Organisation générale de la page

Le projet « cas cliniques d'hématologie » est hébergé parmi les thèses multimédia, elles-mêmes situées dans la partie « supports pédagogiques variés » de l'espace « formation initiale » de la plateforme EVE. Cette page internet est organisée en trois sections, où sont réparties les ressources et les activités :

- la section « Rappels d'hématologie » qui contient un glossaire, un test d'auto-apprentissage et un lien vers un site de cytologie vétérinaire ;
- la section « Réalisation d'un frottis sanguin », constituée de fiches techniques et d'une vidéo ;
- la section « Cas cliniques » où sont disponibles les quatre cas sous forme de test.

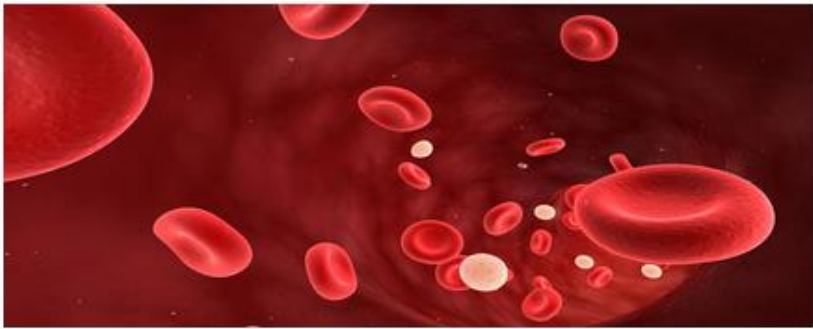
Les figures 96 et 97 ci-dessous sont des captures d'écran de la page d'accueil, montrant l'organisation en sections.

[Figure 96 : Page d'accueil](#)



Cas cliniques d'hématologie




Votre progression ?



Forum des nouvelles

Rappels d'hématologie

Avant de réfléchir aux cas cliniques, nous vous conseillons d'essayer le test d'auto-apprentissage pour vous entraîner à la diagnose des cellules. Le lexique est à votre disposition pour réviser le vocabulaire.

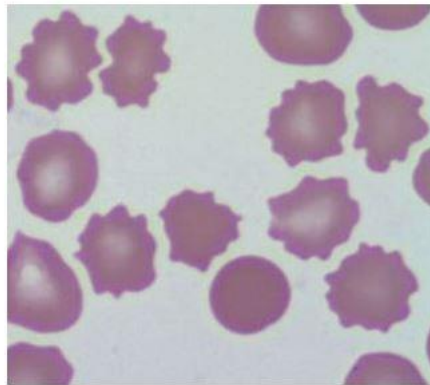
-  Lexique d'hématologie
-  Test d'auto-apprentissage : entraînement à la diagnose
-  Test d'agglutination par Vetcyt

Des liens automatiques sont activés au sein du glossaire : lorsqu'une expression apparaît dans un article ou dans une question, l'étudiant peut afficher sa définition. Cette fonction a été désactivée dans certaines questions pour éviter que la réponse soit trop évidente.

La figure 99 présente le premier article de ce lexique, qui concerne les acanthocytes.

[Figure 99 : Article sur les acanthocytes extrait du lexique](#)

Acanthocytes



Acanthocytes de Chien (MGG, x100)

Hématies avec 2 à 20 spicules à leur surface (projections membranaires), **espacées de façon irrégulière**.

Formation : lors d'un excès de cholestérol dans la membrane par rapport aux phospholipides, en cas de cholestérolémie élevée ou de composition anormale des lipoprotéines plasmatiques.

Causes :

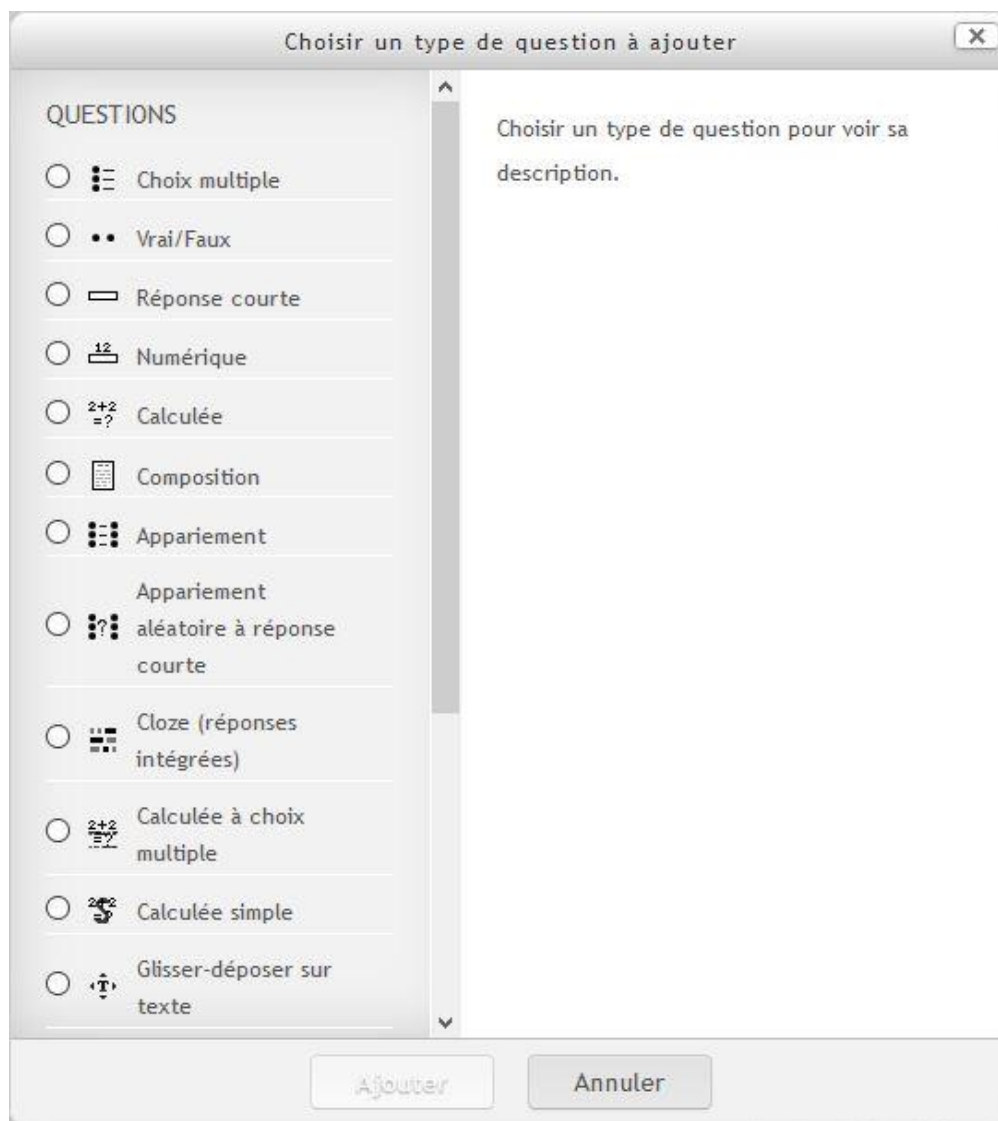
- Chien : atteinte hépatique, shunt porto-systémique ou alimentation riche en cholestérol. Possibles aussi en cas de fragmentation des hématies (hémangiosarcome, glomérulonéphrite, lymphosarcome ou CIVD) ;
- Chat : fréquents en cas d'atteinte hépatique ;
- Jeunes caprins (et parfois bovins) : présence physiologique

3. Création d'une question

Les questions sont des éléments nécessaires à la création d'un test. Elles peuvent être créées spécifiquement pour un test ou ajoutées à une banque de questions réutilisable. La plateforme propose 15 types de questions différentes (figure 100). Les principaux types de questions utilisés dans ce projet sont les suivants :

- question à choix multiple (QCM),
- vrai ou faux,
- question à réponse ouverte courte,
- sélectionner les mots manquants,
- glisser-déposer sur une image,
- glisser-déposer sur un texte.

Figure 100 : Choix d'un type de question



Le menu déroulant de la figure 100 permet de choisir le type de question à ajouter. Une fois la question sélectionnée, un titre doit être ajouté. La question est ensuite rédigée et les réponses possibles créées (figures 101 et 102). Dans le cas d'un QCM, huit réponses sont possibles par défaut, mais il est possible d'ajouter trois emplacements supplémentaires de réponses, autant de fois que nécessaire. Le nombre de bonnes réponses est librement choisi par l'administrateur. De mauvaises propositions, des leurres, ont été ajoutées dans les QCM notamment. Des photographies peuvent également être insérées, quel que soit le type de question sélectionné.

Figure 103 : Exemple de feedback

Question 9

Incorrect

Note de 0,00 sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

Dans le cas de Mila, on aurait pu observer des granulocytes neutrophiles toxiques et hyposegmentés.

Sélectionnez une réponse :

Vrai

Faux ✘

Vérier

Des neutrophiles toxiques et hyposegmentés, signes d'une inflammation aiguë sévère nécrotique et/ou suppurative, s'observent souvent lors de processus inflammatoire aigu sévère ; dans ce contexte infectieux sévère, on aurait pu s'attendre à ce que les rares neutrophiles présents soient hyposegmentés et toxiques.

Incorrect

Note pour cet envoi : 0,00/1,00.

4. Elaboration du test d'auto-apprentissage

Le test de la première section a pour vocation de servir d'auto-apprentissage et d'outil de révision. Il contient des questions sur des définitions, ainsi que des photographies de cellules saines et pathologiques. L'étudiant doit donner le nom de la cellule ou attribuer correctement les légendes.

J'ai créé une banque de 30 questions pour ce test. Dans la banque de questions, elles sont classées par type et par ordre alphabétique (figure 104). Dix questions sont sélectionnées aléatoirement parmi les 30 à chaque tentative de l'étudiant. J'ai autorisé un nombre de tentatives illimitées pour ce test, sans limite de temps.

Figure 104 : Banque de questions du test d'auto-apprentissage

Créer une question...

Page: 1 2 (Suivant)

	Question		Créée par Prénom / Nom / Date	Dernière modification par Prénom / Nom / Date
<input type="checkbox"/>	T ⁺			
<input type="checkbox"/>	+ Leucocytes activés à légender	⚙️ 📄 🔍 ✘	Houdinet Charlotte 4 août 2017, 16:08	Houdinet Charlotte 4 août 2017, 17:14
<input type="checkbox"/>	+ Mycoplasmosse	⚙️ 📄 🔍 ✘	Houdinet Charlotte 1 août 2017, 12:20	Houdinet Charlotte 4 septembre 2017, 19:07
<input type="checkbox"/>	+ Régénération et granulopoïèse +	⚙️ 📄 🔍 ✘	Houdinet Charlotte 4 août 2017, 16:40	Houdinet Charlotte 4 août 2017, 17:12
<input type="checkbox"/>	▼ Neutrophile toxique	⚙️ 📄 🔍 ✘	Houdinet Charlotte 4 août 2017, 14:01	Houdinet Charlotte 4 août 2017, 14:15
<input type="checkbox"/>	⋮ Corps de HJ, polychromatophile	⚙️ 📄 🔍 ✘	Houdinet Charlotte 3 août 2017, 18:12	Houdinet Charlotte 4 septembre 2017, 19:12
<input type="checkbox"/>	⋮ Légendes	⚙️ 📄 🔍 ✘	Houdinet Charlotte 28 juillet 2017, 13:01	Houdinet Charlotte 4 septembre 2017, 18:17
<input type="checkbox"/>	⋮ Corps de Döhle	⚙️ 📄 🔍 ✘	Houdinet Charlotte 31 juillet 2017, 09:08	Houdinet Charlotte 31 juillet 2017, 09:17
<input type="checkbox"/>	⋮ Diagnose d'espèce (CV)	⚙️ 📄 🔍 ✘	Houdinet Charlotte 3 août 2017, 16:06	Houdinet Charlotte 4 septembre 2017, 19:21

5. Création des cas cliniques

Les cas cliniques se présentent sous forme de tests. Ils comprennent une dizaine de questions chacun, créées sur le même principe que précédemment. Les questions sont organisées selon un ordre précis qui respecte le déroulé du cas: description du cas, examen clinique, hypothèses diagnostiques, examens complémentaires envisagés, résultats et interprétation, évolution et conclusion du cas. Quelques descriptions ont été insérées, pour apporter des informations supplémentaires sur le cas entre deux questions. L'annexe 3 montre l'interface de création et de mise en page d'un test, visible par l'administrateur. L'exemple choisi est celui du test de Mila. Les annexes 4 à 11 sont des captures d'écran des questions de ce même test, celui de Mila, le chiot croisé labrador atteint de parvovirose.

L'utilisateur est libre de l'ordre dans lequel il teste les activités de la page EVE. J'ai laissé la possibilité d'essayer les cas cliniques, sans obligatoirement avoir vérifié ses connaissances dans la partie de rappels. De même, il n'y a pas d'ordre au sein des cas cliniques, l'utilisateur peut choisir celui qui l'intéresse le plus au vu du titre du cas.

IV. Discussion

Nous avons vu jusqu'à présent les différentes étapes de création de la page pédagogique dédiée à l'hématologie. Nous allons désormais nous intéresser aux intérêts et limites de l'ensemble du projet.

A. Limites du projet pédagogique

Certaines anomalies morphologiques observables sur un frottis sanguin sont peu fréquentes et n'ont pas pu être photographiées au laboratoire d'hématologie de l'ENVA. C'est le cas notamment du syndrome de Chédiak-Higashi ou de la mucopolysaccharidose des granulocytes neutrophiles. Ces anomalies sont donc absentes de la page EVE. Elles sont cependant décrites dans la partie bibliographique de cette thèse, qui pourra être consultée en ligne ou à la bibliothèque.

D'autre part, les photographies de frottis de ruminants ou de chevaux sont peu nombreuses dans cet outil informatique, par rapport à celles des carnivores domestiques. Dans le cas des équidés, les frottis et hémogrammes sont réalisés directement au sein de la clinique équine, sans être transmis au Biopôle. Le dr Lagrange n'a donc pas eu l'occasion de photographier ces frottis. Concernant les ruminants, la clinique des grands animaux reçoit principalement des bovins. Les cliniciens pratiquent régulièrement des analyses sanguines sur ces animaux, mais je n'ai pas trouvé de cas qui soit suffisamment complet et intéressant d'un point de vue hématologique pour le mettre à disposition des étudiants. J'ai cependant pu intégrer quelques photographies de cellules bovines saines dans le lexique.

B. Intérêts du projet

Ce projet a pour but de s'inscrire dans une série d'outils pédagogiques en ligne sur la plateforme Moodle. Il participe pleinement à la nouvelle dynamique d'enseignement par auto-apprentissage développée ces dernières années à l'ENVA, qu'il soit disponible en ligne pour les connaissances théoriques ou en salle Vetsims pour la mise en pratique.

Ce projet se veut également ludique, grâce à ses nombreuses photographies et ses différents types de questions. En effet, j'ai essayé de varier le type des questions, pour ne pas utiliser trop souvent les QCM. J'ai privilégié, lorsque cela était possible, les questions avec davantage d'interactions, comme les questions de type « glisser-déposer sur une image » ou « sélectionner les mots-manquants », qui ont l'aspect de textes à trous.

Créer l'outil pédagogique sur la plateforme Moodle permet un accès libre à tous les étudiants de l'ENVA à tout moment, à l'unique condition de disposer d'un accès internet. L'outil est facile d'utilisation, et ce d'autant plus que les étudiants ont l'habitude des tests et questionnaires sur Moodle, déjà employés par certains enseignants.

Enfin, cette page EVE peut être abordée de différentes manières selon le niveau et les objectifs de l'utilisateur. Elle peut servir pour de simples révisions, notamment grâce au lexique, mais elle peut aussi servir de réel outil d'auto-apprentissage grâce aux cas cliniques. Si l'accès à la page est rendu possible pour les vétérinaires praticiens, le projet pourrait servir d'outil de formation continue.

BIBLIOGRAPHIE

- AROCH I., KLEMENT E., SEGEV G. (2005) Clinical, biochemical, and hematological characteristics, disease prevalence, and prognosis of dogs presenting with neutrophil cytoplasmic toxicity. *J Vet Intern Med.* 2005;**19**:64-73.
- BARGER A.M. (2010). Erythrocyte morphology. In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). *Schalm's veterinary hematology.* 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 144-151.
- BOYCE J.T., KOCIBA G.J., JACOBS R.M., WEISER M.G. (1986) Feline leukemia virus-induced thrombocytopenia and macrothrombocytosis in cats. *Vet Pathol.* 1986;**23**:16-20.
- CORDONNIER N. (2015) *Hématologie : Présentation générale, Polycopié.* Ecole nationale vétérinaire d'Alfort - Unité pédagogique d'Histologie et d'Anatomie-Pathologique vétérinaires.
- DARBES J., MAJZOUB M., BREUER W., HERMANN W. (1998) Large granular lymphocytic leukemia/lymphoma in six cats. *Vet Pathol.* 1998;**35**:370-379.
- DAVIS B., TOIVIO-KINNUCAN M., SCHULLER S., BOUDREAUX M.K. (2008) Mutation in beta1-tubulin correlates with macrothrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels. *J Vet Intern Med.* 2008;**22**:540-545.
- EICHACKER P., LAWRENCE C. (1985) Steroid-induced hypersegmentation in neutrophils. *Am J Hematol.* 1985;**18**(1):41-5.
- FYFE J.C., GIGER U., HALL C.A., *et al.* (1991) Inherited selective intestinal cobalamin malabsorption and cobalamin deficiency in dogs. *Pediatr Res.* 1991;**29**:24-31.
- GARRETT L.D., CRAIG C.L., SZLADOVITS B., CHUN R. (2007) Evaluation of buffy coat smears for circulating mast cells in healthy cats and ill cats without mast cell tumor-related disease. *J Am Vet Med Assoc.* 2007;**231**:1685-1687.
- GAUNT S.D., BAKER D.C. (1986) Hemosiderin in leukocytes of dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Vet Clin Pathol.* 1986;**15**(2):8-10.
- GILL A.F., GAUNT S., SIRNINGER J. (2006) Congenital Pelger-Huët anomaly in a horse. *Vet Clin Pathol.* 2006;**35**:460-462.
- GRONDIN T.M., DEWITT S.F., KEETON K.S. (2007) Pelger-Huët anomaly in an Arabian horse. *Vet Clin Pathol.* 2007;**36**:306-310.
- HARVEY J.W. Myeloproliferative disorders in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1981;**11**:349-381.
- HARVEY J.W. (1982) Hematology tip—stains for distemper inclusions. *Vet. Clin. Pathol.* 1982;**11**:12.
- HARVEY J.W. (2011) Thrombocytotropic anaplasmosis (*A. platys* [*E. platys*] infection). In: GREENE C.E., ed. *Infectious Diseases of the Dog and Cat.* 4th ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2011: in press.

HARVEY J.W. (2012). *Veterinary hematology: A diagnostic guide and color atlas*. Saint Louis, W.B. Saunders Compagny, 368 p.

HARVEY J.W., STOCKHAM S.L., SCOTT M.A., JOHNSON P. J., DONALD J.J., CHANDLER C.J. (2003) Methemoglobinemia and eccentrocytosis in equine erythrocyte flavin adenine dinucleotide deficiency. *Vet Pathol.* 2003; **40**:632-642.

HASKINS M.E., AGUIRRE G.D., JEZYK PF, SCHUCHMAN E.H., DESNICK R. J., PATTERSON D.F. (1991) Mucopolysaccharidosis type VII (Sly syndrome): beta-glucuronidase-deficient. *Am J Physiol.* 1991;**138**:1553-1555.

HEBERT F., BULLIOT C. (2014). *Guide pratique de médecine interne chien, chat et NAC*. 4^{ème} éd. Paris, Editions Med'Com, 812p.

JAIN N.C. (1993) *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia : Lea et Febiger;1993.

KOHN B., ARNOLD P., KASER-HOTZ B., HAUSER B., FLUCKIGER M., SUTER P.F. (1993) Malignant histiocytosis of the dog: 26 cases (1989-1992). *Kleintierpraxis.* 1993;**38**:409-424.

KRAMER J., TORNQUIST S., ERFLE J., SLOEOJAN G. (1993) Large granular lymphocyte leukemia in a horse. *Vet Clin Pathol.* 1993;**22**:126-128.

KERR M.G. (2002). *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical biochemistry and haematology*. 2nd ed. Ames, Wiley-Blackwell, 392p.

LALLEMAND M., RANNOU B. (2014). L'hématologie et la biochimie des bovins. In: Francoz D., Couture Y. (éditeurs). *Manuel de médecine des bovins*. Paris, Editions Med'Com. p. 5-36.

LATIMER K.S., PRASSE K.W. (2003) Leukocytes, In: *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*, 4th ed. Ames : Iowa State Press, 2003 ; 46 – 79.

LEDIEU D. (2004) Les granulocytes neutrophiles et leurs variations chez le chien et le chat. *Le Nouv. Prat. Vét.* 1980;**16**:21-26.

LEICA MICROSYSTEMS. *Caméra couleur numérique grande vitesse destinée à l'enseignement dans les collèges et universités Leica EC3*. [Site Web] [<http://www.leica-microsystems.com/fr/produits/cameras-de-microscope/sciences-de-la-vie/informations-detaillees/product/leica-ec3/>] (consulté le 25/09/17).

LITTLE S.E., ALLEN K.E., JOHNSON E.M., PANCIERA R.J., REICHARD M.V., EWING S.A. (2009) New developments in canine hepatozoonosis in North America: a review. *Parasit Vectors.* 2009;**2**(Suppl 1):S5

MACEWEN E.G., DRAZNER F.H., MCCLELLAND A.J., *et al.* (1975) Treatment of basophilic leukemia in a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 1975;**166**:376-380.

MADIGAN J.E., GRIBBLE D. (1987) Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1981). *J Am Vet Med Assoc.* 1987;**190**:445-448.

- MEARS E.A., RASKIN R.E., LEGENDRE A.M. (1997) Basophilic leukemia in a dog. *J Vet Intern Med.* 1997;**11**:92-94.
- MORITZ A., BECKER M. (2010). Automated hematology systems. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology.* 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 1054-1066.
- MYERS S., WIKS K., GIGER U. (1996) Macrocytic anemia caused by naturally occurring folate deficiency in the cat (abstract). *Vet Clin Pathol.* 1996;25:30.
- NEER T.M., DIAL S.M., PECHMAN R., WANG P., OLIVER J.L., GIGER U. (1995) Mucopolysaccharidosis VI in a miniature Pinscher. *J Vet Intern Med.* 1995;**9**:429-433.
- POHLMAN L.M. (2010). Basophils, Mast Cells, and Their Disorders. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology.* 6th ed. Ames, Wiley-
- POWELL R., TORRANCE A. (2012). Introduction to haematological diagnostic techniques. *In: Day M.J., Kohn B. (editors). BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine.* 2nd ed. Gloucester, British small animal veterinary association, p. 1-20.
- RANDOLPH J.F., PETERSON M.E., STOKOL T. (2010). Erythrocytosis and Polycythemia *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology.* 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 162-166.
- RASKIN R.E., KREHBIEL J.D. (1985). Myelodysplastic changes in a cat with myelomonocytic leukemia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1985;**187**:171-174.
- REAGAN W.J., IRIZARRY ROVIRA A.R., DENICOLA D.B. (2008). *Veterinary Hematology, Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species.* 2nd ed, Ames, Wiley-Blackwell, 124 p.
- ROSSI G., GELAIN M.E., FORONI S., COMAZZI S. (2009) Extreme monocytosis in a dog with chronic monocytic leukaemia. *Vet Rec.* 2009;**165**:54-56.
- RUSSEL K.E. (2010). Platelet kinetics and laboratory evaluation of thrombocytopenia. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology.* 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 576-585.
- SCHULTZE A. E. (2010). Interpretation of Canine Leukocyte Responses. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology.* 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 321-334.
- SEGEV G., KLEMENT E., AROCH I. (2006) Toxic neutrophils in cats: clinical and clinicopathologic features, and disease prevalence and outcome—a retrospective case control study. *J Vet Intern Med.* 2006;**20**:20-31.
- SIMPSON C.F., TAYLOR W.J., KITCHEN H. (1980) Crystalline inclusions in erythrocytes parasitized with *Babesia equi* following treatment of ponies with imidocarb. *Am. J. Vet. Res.* 1980;**41**:1336-1340.
- STOCKHAM S.L., SCOTT M.A. (2008). *Fundamentals of veterinary clinical pathology.* 2nd ed. Ames, Wiley-Blackwell, 920 p.

- STOKOL T. (2010). Essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 605-611.*
- TANT M.S., LUMSDEN J.H., JACOBS R.M., *et al.* Evaluation of acanthocyte count as a diagnostic test for canine hemangiosarcoma. *Comp Clin Pathol.* 2004;**12**:174-181.
- THRALL M.A. (2012). *Veterinary hematology and clinical chemistry.* Ames, Wiley-Blackwell, 776 p.
- TORRANCE A. (2000). Overview of haematological diagnostic techniques. *In: Day M.J., Mackin A., Littlewood J. BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine.* Gloucester, British small animal veterinary association, p.3-18.
- TVEDTEN H. (2010). Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 152-161.*
- TVEDTEN H., MORITZ A. (2010). Reticulocyte and Heinz Body Staining and Enumeration. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 1067-1073.*
- TVEDTEN H., RIIHIMAKI M. (2007). Hypersegmentation of equine neutrophils. *Vet. Clin. Pathol.* 2007;**36**:4-5.
- VALENCIANO A.C., DECKER L.S., COWELL R.L. (2010) Interpretation of Feline Leukocyte Responses. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 335-344.*
- WALKER D. (2006) Frottis sanguin *In: Cowell R.L., Tyler R.D., Meinkoth J.H. (éditeurs). Guide pratique de cytologie et hématologie du chien et du chat.* Paris, Editions Med'Com, p. 254-283.
- WEISS D.J. (2010). Neutrophil function disorders. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 275-280.*
- WEISS DJ, AIRD B. (2001) Cytologic evaluation of primary and secondary myelodysplastic syndromes in the dog. *Vet Clin Pathol.* 2001;**30**:67-75.
- YOUNG K.M., MEADOWS R.L. (2010). Eosinophils and their disorders. *In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (editors). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Ames, Wiley-Blackwell, p. 281-289.*

ANNEXES

ANNEXE 1 : Récapitulatif des modifications les plus fréquentes des hématies et de leur étiologie (modifié d'après Tvedten, 2010)

Modifications cellulaires	Causes	Espèces	
	Acanthocyte	Coagulation Intravasculaire Disséminée (CIVD)	Chien
		Hémangiosarcome	Chien
		Shunt portosystémique	Chien
		Maladie hépatique chronique	Chien, chat
		Lymphome	Chien
		Glomérulonéphrite	Chien
	Echinocyte	Artéfact (hématies crénelées)	Chien, chat, bovin, cheval
		Lymphome	Chien
		Glomérulonéphrite	Chien
		Toxicité de la doxorubicine	Chien
		Déplétion en électrolytes	Cheval, chien
	Eccentrocyte/ Pyknocyte	Traitement à la vitamine K	Chien
		Ingestion d'oignon	Chien
		Acétyl phénylhydrazine	Chien
		Peroxyde d'hydrogène intraveineux	Bovin
		Déficiencia en glucose-6-phosphate déshydrogénase	Cheval
	Kératocyte/ Schizocyte	CIVD	Chien, chat, bovin, cheval
		Insuffisance cardiaque congestive	Chien
		Glomérulonéphrite	Chien
		Myélofibrose	Chien
		Hémangiosarcome	Chien
		Toxicité chronique de la doxorubicine	Chien
	Sphérocyte	Anémie hémolytique à médiation immune	Chien
		Transfusion sanguine	Chien
		Infestation parasitaire sanguine	Différentes espèces
		Anaplasmose	Bovin
		Sphérocytose héréditaire	Chèvre, bovin, chien
Intoxication au zinc		Chien	
Venin de serpent (vipère, serpent corail)		Chien	
Hypophosphatémie	Chien		
Inclusions	Corps de Heinz	Ingestion d'oignon, d'ail, de poireaux	Chien, chat, bovin, cheval, ovine
		Traitement à la vitamine K3	Chien
		Traitement au paracétamol	Chat
		Traitement à la phénothiazine	Cheval
		Ingestion de feuille d'Erable rouge	Cheval
		Traitement au bleu de méthylène	Chien, chat

		Traitement à la phénazopyridine	Chat
		Propylène glycol dans l'alimentation	Chien, chat
		Ingestion de Brassica spp.	Bovin
		Carence en sélénium	Bovin
		Intoxication au cuivre	Ovin
		Intoxication au zinc	Chien
Couleur	Hypochromie	Carence en fer	Chien, chat, bovin, cheval, porc, lama, caprin, oiseaux
		Inflammation	Oiseaux
		Intoxication au plomb	Oiseaux
Taille	Macrocytose	Anémie régénérative	Nombreuses espèces
		Macrocytose du Caniche	Chien
		Stomatocytose	Chien
		Infection par le FeLV	Chat
		Myélodysplasie	Chat
		Molécules anticonvulsivantes (antifolates)	Chien
		Stockage prolongé du sang	Nombreuses espèces
	Hypernatrémie	Chat, chien	
	Microcytose	Carence en fer	Chien, chat, bovin, cheval, porc
		Shunt hépatique portosystémique	Chien
		Hyponatrémie	Chien
Microcytose héréditaire		Chien (Akita, Shiba)	

ANNEXE 2 : Etiologie et mécanismes d'une thrombocytopénie (modifié d'après Walker, 2006 ; Russel, 2010 ; Harvey, 2012 ; Thrall, 2012)

Mécanismes	Causes	Affections et molécules
Production diminuée	Infection (<i>virale, parasitaire</i>)	Anémie infectieuse équine (AIE) Diarrhée virale bovine (BVD) FeLV, FIV (<i>chat</i>) Parvovirus canin Peste porcine africaine (PPA) Ehrlichiose
	Irradiation	
	Molécules toxiques	Antibiotiques (<i>céphalosporines, sulfonamides</i>) Anticancéreux divers Antifongiques (<i>griséofulvine</i>) Anti-inflammatoires non stéroïdiens (<i>carprofène, phénylbutazone</i>) Anthelminthiques (<i>albendazole, levamisole</i>) Œstrogènes (<i>chien, furet</i>) Phénobarbital
	Origine auto-immune	Hypoplasie/aplasie des mégacaryocytes (<i>chien, chat</i>)
	Origine héréditaire	Hématopoïèse cyclique (<i>Colley gris</i>) Macrothrombocytopénie du Cavalier King Charles
	Syndrome myélodysplasique	Myélofibrose Myélonécrose Néoplasie primaire (myéloïde, lymphoïde, myélome mutiple) Néoplasie métastatique (carcinome, mastocytome)
Consommation augmentée ou pertes	Activation et agrégation plaquettaire diffuse	CIVD (<i>causes multiples</i>) Envenimation (vipère) Inflammation Purpura (thrombotique) thrombocytopénique (<i>rare</i>) Syndrome hémolytique urémique (<i>rare</i>)
	Coagulation locale	Hémangiosarcome (<i>chien</i>) Thrombose d'un gros vaisseau Vasculite
	Infection bactérienne	Septicémie, endotoxémie Endocardite Leptospirose, tularémie, borreliose
	Infestation parasitaire	Leishmaniose Protozoaires : Babésiose, Theileriose Rickettsies : Ehrlichiose, Anaplasmose Sarcocytose (<i>chien, bovin, porc</i>) Trypanosomose
	Infection virale	Anémie infectieuse équine (AIE) Diarrhée virale bovine (BVD) Peste porcine africaine (PPA) Peste porcine classique (PPC) Virus de la maladie de Carré

	Néoplasie	Hémangiosarcome Histiosarcome hémophagocytaire Lymphome (<i>chien</i>)
	Pertes sanguines	Hémorragie aiguë massive
Destruction	Auto-immune	Thrombocytopénie immunitaire primaire (<i>rare</i>) Thrombocytopénie immunitaire secondaire : Atteinte auto-immune systémique (lupus érythémateux disséminé) Héparine (<i>cheval, chat</i>) Infection (<i>Ehrlichia canis</i>) Médicaments Néoplasie (lymphome)
	Allo-immune	Thrombocytopénie néonatale (chevaux, mules, porcs)
Séquestration	Affection splénique	Congestion splénique grave Hypersplénisme Torsion splénique Tumeur splénique
	Affection hépatique	Hépatomégalie
	Séquestration dans la microcirculation	Anaphylaxie, endotoxémie

ANNEXE 4 : Cas de Mila (1)

Description

Marquer la question

Modifier la question

Anamnèse et commémoratifs :

Mila est un chiot Labrador femelle de 3 mois, présentée en urgence le 20 mars pour vomissements non alimentaires incoercibles toutes les 2 heures et anorexie depuis la veille, accompagnés d'une diarrhée profuse depuis 3 jours.

Melki, le frère de Mila, est décédé le 16 mars en hospitalisation, avec une très forte suspicion de parvovirose. Mila et Melki étaient très souvent en contact.

Poids = 5.4kg

Primo-vaccination : 2 premières injections (valences non précisées)

Anti-parasitaires externes et internes : à jour

Examen clinique :

Mila présente un amaigrissement sévère (perte de 900g en 4 jours). Elle est normotherme. Elle est déshydratée à 8% et ses muqueuses pâles et sèches. Son pouls fémoral est filant, son pouls métatarsien est absent. Elle présente un abattement marqué. La palpation abdominale est souple et non douloureuse.

Question 1

Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

A ce stade, quel est votre diagnostic différentiel ?

Veillez choisir au moins une réponse :

- une insuffisance rénale aiguë
- un corps étranger digestif
- une insuffisance hépatique
- une intussusception ou un volvulus intestinal
- un méga-oesophage
- une parvovirose
- du parasitisme
- une tumeur gastro-intestinale
- une gastrite/une indiscrétion alimentaire

Vérier

Question 2

Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

Au vu du diagnostic différentiel, quels examens complémentaires proposez-vous ?

Veillez choisir au moins une réponse :

- une radiographie thoracique
- un bilan biochimique
- un ionogramme
- une PCR sur selles et/ou sur sang
- une échographie digestive
- un SNAP test parvovirus
- une numération formule sanguine et un frottis sanguin
- une radiographie abdominale

Vérier

Page suivante

Revenir à Cas cliniques

ANNEXE 5 : Cas de Mila (2)

Description

Marquer la question

Modifier la question

Suite à l'examen clinique de Mila, une échographie abdominale est réalisée. Elle ne montre aucun signe d'obstruction digestive. Mila présente en revanche des signes de gastro-entéro-colite modérée, avec adénopathie mésentérique réactionnelle.

En parallèle, un bilan biochimique est réalisé :

Paramètres	Mesures	Normes
PAL (UI/L)	198	29-153
ALAT (UI/L)	43	20-133
PT (UI/L)	57	60-81
Albumine (g/L)	27	29-37
Urée (g/L)	0.3	0.2-0.6
Créatinine (mg/L)	2.0	4.1-12.0
Glucose (g/L)	1.31	0.6-1.35

Question 3

Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

L'activité des PAL est . Cette mesure .

On observe de plus une , associée à une .

Vérier

Question 4

Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

Un ionogramme est réalisé le jour de l'admission.

Na⁺ : 141 mmol/L (143-168 mmol/L)

K⁺ : 3,8 mmol/L (4,1-5,4 mmol/L)

Cl⁻ : 101 mmol/L (108-131 mmol/L)

Mila présente donc une hyponatrémie , une hypokaliémie et une hypochlorémie modérées.

Quelles en sont les deux causes les plus probables selon vous ?

(séparez les réponses d'un simple espace)

Réponse :

Vérier

Page suivante

Revenir à Cas cliniques ↩

ANNEXE 6 : Cas de Mila (3)

Question 5

Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

Suite à l'admission de Mila aux soins intensifs, une numération formule sanguine est également réalisée.

	Intitulé (Réf. Interne)	Résultat	Unité	Valeurs usuelles	
21/03/17	Globules rouges	6,38	Millions/	5,2 - 7,9	
21/03/17	Hémoglobine	14,2	g/100 m	12,4 - 19,2	
21/03/17	Hématocrite	40,9	%	35 - 52	
21/03/17	VGM	64,1	µm ³	60 - 71	
21/03/17	TCMH	22,3	pg	21,9 - 26,3	
21/03/17	CCMH	34,7	g/dL	34,4 - 38,1	
21/03/17	Réticulocytes	20400	/mm ³	19400 - 150100	0,32%
21/03/17	Plaquettes	91000	/mm ³	64000 - 613000	
21/03/17	Leucocytes	1540	/mm ³	5600 - 20400	Formule manuelle
21/03/17	Granulocytes neutrophiles nc	/	mm ³	0 - 500	
21/03/17	Granulocytes neutrophiles se	520	/mm ³	2900 - 13600	
21/03/17	Granulocytes éosinophiles	220	/mm ³	100 - 1500	
21/03/17	Granulocytes basophiles	0	/mm ³	0 - 100	
21/03/17	Lymphocytes	770	/mm ³	1100 - 5300	
21/03/17	Monocytes	30	/mm ³	400 - 1600	

Comment interpréter vous cette analyse ?

Veuillez choisir au moins une réponse :

- leucopénie
- neutrophilie
- leucocytose
- thrombopénie
- neutropénie
- lymphocytose
- anémie
- thrombocytose
- lymphopénie

Vérifier

ANNEXE 7 : Cas de Mila (4)

Question 6

Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

Hospitalisée aux soins intensifs, Mila reste très abattue. Elle est anorexique, elle présente une diarrhée hémorragique et la palpation abdominale est douloureuse, parfois émétisante.

Une seconde NFS est réalisée le 23 mars.

23/03/17	Globules rouges	5,17	Millions/	5,2 - 7,9	
23/03/17	Hémoglobine	11,4	g/100 m	12,4 - 19,2	
23/03/17	Hématocrite	32,3	%	35 - 52	
23/03/17	VGM	62,5	µm ³	60 - 71	
23/03/17	TCMH	22,1	pg	21,9 - 26,3	
23/03/17	CCMH	35,3	g/dL	34,4 - 38,1	
23/03/17	Réticulocytes	7800	/mm ³	19400 - 150100	0,15%
23/03/17	Plaquettes	27000	/mm ³	64000 - 613000	
23/03/17	Leucocytes	360	/mm ³	5600 - 20400	
23/03/17	Granulocytes neutrophiles nc	/	/mm ³	0 - 500	
23/03/17	Granulocytes neutrophiles se	10	/mm ³	2900 - 13600	
23/03/17	Granulocytes éosinophiles	0	/mm ³	100 - 1500	
23/03/17	Granulocytes basophiles	0	/mm ³	0 - 100	
23/03/17	Lymphocytes	330	/mm ³	1100 - 5300	

Quelles anomalies observez-vous ?

Veillez choisir au moins une réponse :

- une thrombopénie
- anémie microcytaire hypochrome
- anémie macrocytaire
- anémie normocytaire normochrome
- anémie arégénérative
- une leucocytose
- une thrombocytose
- anémie régénérative
- une panleucopénie

Vérifier

Page suivante

Revenir à Cas cliniques ➔

ANNEXE 8 : Cas de Mila (5)

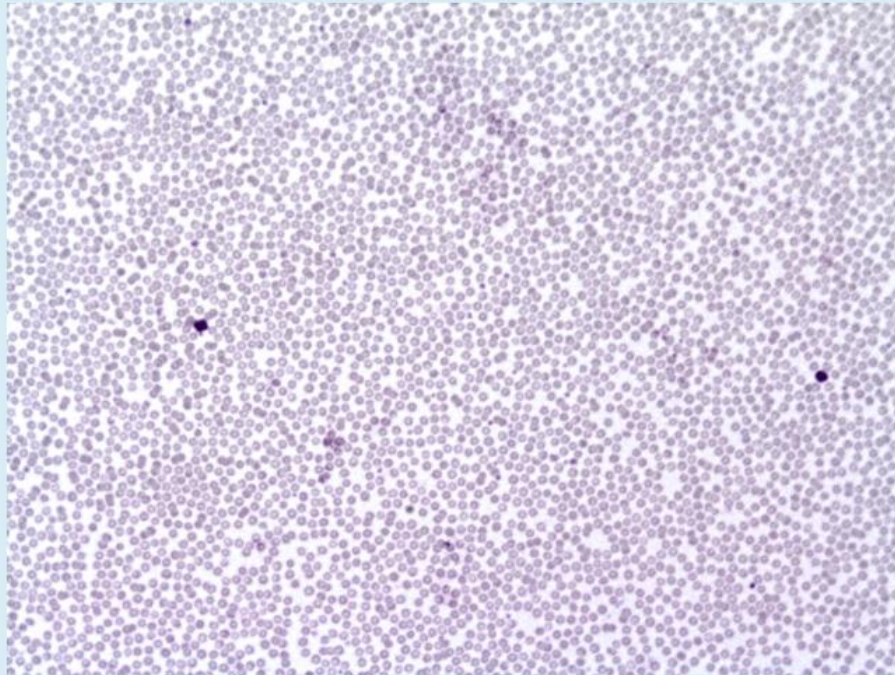
Question 7

Incomplet

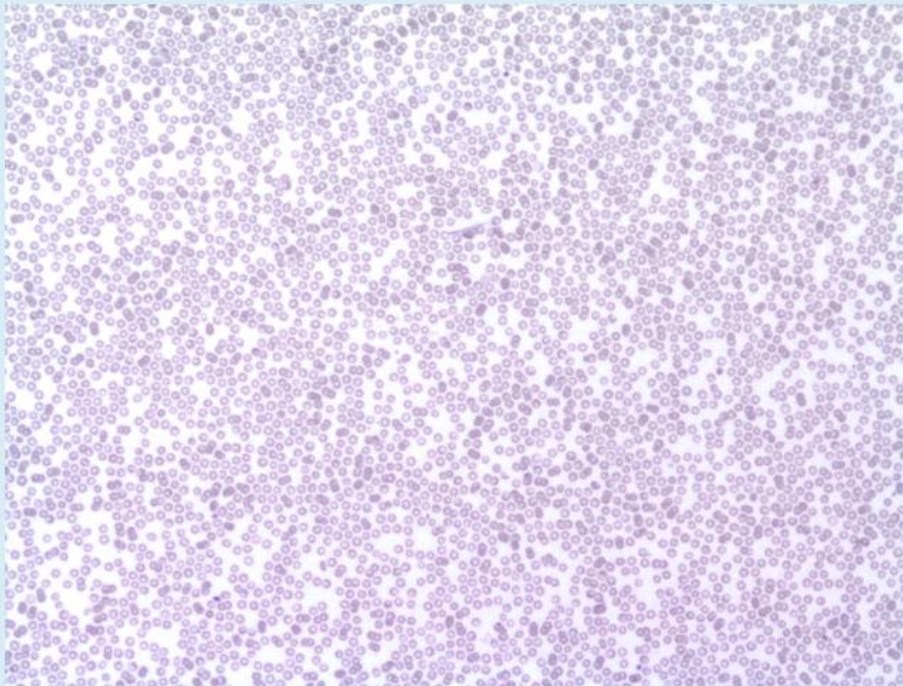
Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question



Frottis du 21/03 (MGG, obj x10)



Qu'observez-vous sur ces deux frottis sanguins de Mila ?

Réponse :

Vérier

ANNEXE 9 : Cas de Mila (6)

Question 8

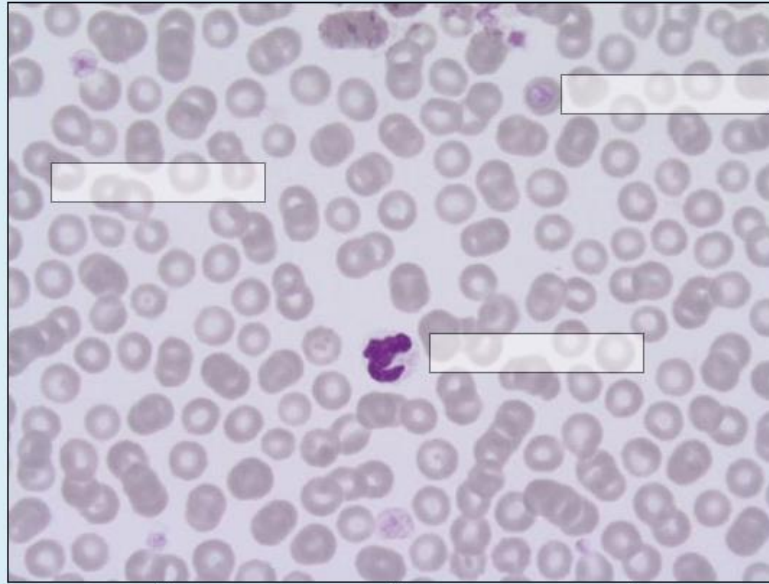
Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

Légendez correctement cette photographie. (MGG, obj x50 avec huile à immersion)



Plaquette

Piroplasme

Hématies

Granulocyte neutrophile

Vérifier

Question 9

Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

Dans le cas de Mila, on aurait pu observer des granulocytes neutrophiles toxiques et hyposégmentés.

Sélectionnez une réponse :

- Vrai
 Faux

Vérifier

ANNEXE 10 : Cas de Mila (7)

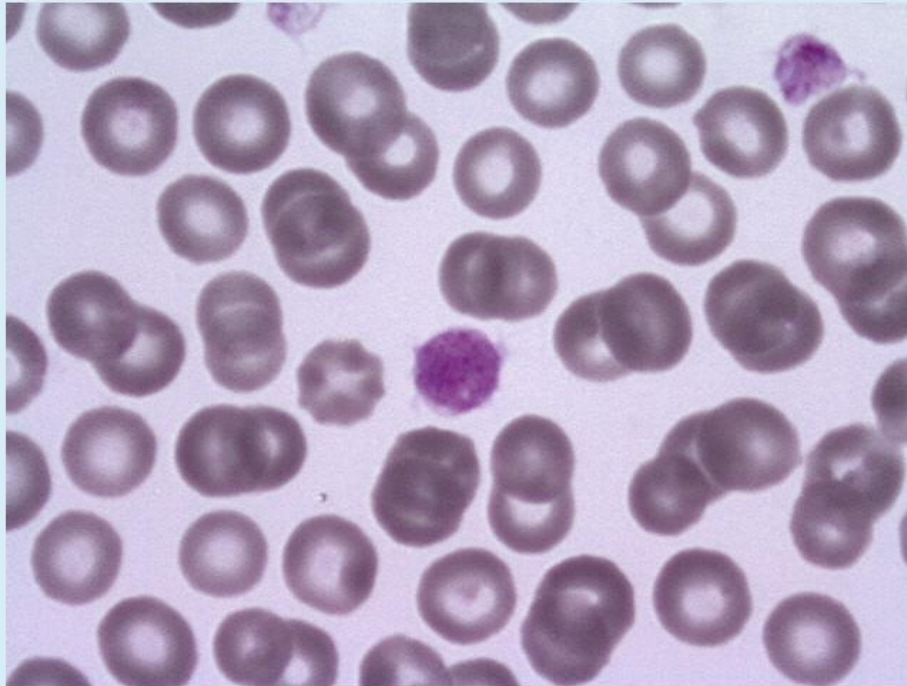
Question 10

Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question



Quelle est la cellule au centre de cette image ?
(MGG, obj x100, huile à immersion)

Réponse :

Vérier

Page suivante

ANNEXE 11 : Cas de Mila (8)

Question 11

Incomplet

Noté sur 1,00

Marquer la question

Modifier la question

Quel est le diagnostic différentiel d'une panleucopénie ?

Pour la neutropénie :

* Choisir... de neutrophiles dépassant les capacités de production Choisir... : inflammation aiguë

sévère

* Destruction périphérique de neutrophiles : neutropénie à médiation immune

* Choisir... de production Choisir... : infection (parvovirus), toxiques, médicaments (oestrogènes, chimiothérapie...), envahissement médullaire ou myélophytisie par des cellules néoplasiques (lymphome, leucémie), de la fibrose voire de la nécrose.

Pour la lymphopénie :

* Consommation idem de lymphocytes par un site inflammatoire aigu infectieux

* Défaut de Choisir... des lymphocytes dans l'organisme (chylorthorax, ...)

* Perte/fuite de Choisir... (lymphangiectasie, lymphome diffus...).

* Destruction : corticothérapie, Cushing, chimiothérapie.

* Défaut de production : déficit immunitaire congénital ou acquis.

Pour l'éosinopénie :

* Inflammation aiguë

* Margination lors de choc Choisir...

* Cortico-induction (corticothérapie, Cushing...).

En gras, les causes les plus probables dans le contexte de Mila.

Vérifier

Description

Marquer la question

Modifier la question

CONCLUSION du cas de Mila :

Le deuxième hémogramme est en faveur :

- d'une **anémie**, dont la régénération est à contrôler dans 3 à 5 jours,
- d'une inflammation aiguë infectieuse, probablement d'origine virale,
- d'une régénération plaquettaire.

Malgré les traitements et le nursing réalisés aux soins intensifs, Mila est décédée le 24 mars. Les PCR n'ont pas été demandées.

Terminer le test...

Revenir à Cas cliniques ➔

CRÉATION D'UN OUTIL PÉDAGOGIQUE D'HÉMATOLOGIE GRÂCE À LA PLATEFORME D'APPRENTISSAGE MOODLE

NOM Prénom : HOUDINET Charlotte

Résumé

Cette thèse a pour objectif la création d'un support pédagogique multimédia complémentaire à l'enseignement théorique de l'hématologie reçu par les étudiants vétérinaires de l'ENVA. Pour cela, nous avons créé une page web dédiée à l'hématologie, disponible sur le site internet de l'Enseignement et de la Vie Etudiante de l'ENVA, hébergé par la plateforme Moodle. L'outil pédagogique a pour but de favoriser l'apprentissage du vocabulaire d'hématologie, ainsi que la morphologie des cellules observées sur un frottis sanguin. Cet outil est à destination des étudiants à partir de la troisième année, mais aussi des vétérinaires diplômés dans le cadre de la formation continue. La page internet comprend un lexique d'hématologie, élaboré à partir d'une synthèse bibliographique réalisée en amont, une vidéo de la réalisation d'un frottis sanguin, un test d'auto-apprentissage illustré par des photographies de frottis sanguins, ainsi que des cas cliniques de patients du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort. Le support pourra être utilisé en complément des enseignements théoriques et être consulté avant les périodes de formation en clinique afin de pouvoir mettre en pratique ces connaissances. Les étudiants souhaitant approfondir leurs connaissances peuvent se référer à la première partie de cette thèse manuscrite qui est une synthèse bibliographique d'hématologie vétérinaire.

Mots clés : HEMATOLOGIE, ENSEIGNEMENT VETERINAIRE, APPRENTISSAGE, FROTTIS SANGUIN, INTERNET, PEDAGOGIE, CAS CLINIQUE, CARNIVORE DOMESTIQUE, RUMINANT, CHEVAL

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Mme Nathalie CORDONNIER-LEFORT

Assesseur : M. Sylvain BELLIER

Invitée : Mme Isabelle LAGRANGE

DEVELOPMENT OF A VIRTUAL HEMATOLOGICAL PEDAGOGIC TOOL, PRESENTING ONLINE HEMATOLOGICAL CLINICAL CASES VIA MOODLE PLATFORM

SURNAME : HOUDINET

Given name : Charlotte

Summary

The purpose of this thesis was to realize an educational tool as a complement to the classes of hematology of the vet students of the ENVA. We created a webpage devoted to hematology, available on the website of the "Enseignement et de la Vie Etudiante" of the ENVA, on the platform Moodle. The intention of the educational tool is to help students to learn the haematological vocabulary, and the morphological aspect of cells of a blood smear. This tool is destined to the students from the third year and also graduated veterinarians, as part of continuing education. The webpage contents an hematological vocabulary, a video of the realization of a blood smear, a self-learning test illustrated by pictures of blood smears, followed by clinical cases from the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort. This tool can be used as a complement of the theoretical classes and before the practical trainings at the hospital. Students who wish to learn more about this subject can refer to the first part of this thesis, which is a veterinarian hematological review.

Keywords : HEMATOLOGY, VETERINARIAN EDUCATION, LEARNING, BLOOD SMEAR, INTERNET, PEDAGOGY, CLINICAL CASE, DOMESTIC CARNIVORE, RUMINANT, HORSE

Jury :

President : Pr.

Director : Mrs Nathalie CORDONNIER-LEFORT

Assessor : Mr Sylvain BELLIER

Guest : Mrs Isabelle LAGRANGE