ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 2015

CARACTÉRISTIQUES ZOOTECHNIQUES ET SANITAIRES DE L'ÉLEVAGE D'ALPAGAS (*LAMA PACOS*) EN FRANCE ET ÉLABORATION D'UNE BASE DE DONNÉES HÉMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le……

par

Mathilde HOOLBECQ

Née le 17 novembre 1990 à Lagny sur Marne (Seine et Marne)

JURY

Président : Pr.
Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres
Directeur : Mr BELLIER Sylvain
Professeur à l'ENVA, Biochimie
Assesseur : Mr BELBIS Guillaume
Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel à l'ENVA, Pathologie des Animaux de Production

Mai 2015

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT
Directeur : M. le Professeur GOGNY Marc

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : COTARD Jean-Pierre, MIALOT Jean-Paul, MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard.
Professeurs honoraires : Mme et MM. : BENET Jean-Jacques, BRUGERE Henri, BRUGERE-PICOUX Jeanne, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CHERMETTE René, CLERC Bernard, CRESPEAU François, M. COURREAU Jean-François, DEPUTTE Bertrand, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, POUCHELON Jean-Louis, ROZIER Jacques.

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)
Chef du département : M. GRANDJEAN Dominique, Professeur - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

UNITE DE CARDIOLOGIE
- Mme CHETBOUL Valérie, Professeur *
- Mme GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier
- Mme SECHI-TREHIOU Emilie, Praticien hospitalier

UNITE DE CLINIQUE EQUINE
- M. AUDIGIE Fabrice, Professeur
- Mme BERTONI Lélia, Maître de conférences contractuel
- Mme BOURZAC Céline, Maître de conférences contractuel
- M. DENOIX Jean-Marie, Professeur
- Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier *
- Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Praticien hospitalier
- Mme TRACHSEL Dagmar, Praticien hospitalier

UNITE D'IMAGERIE MEDICALE
- Mme PEY Pascaline, Maître de conférences contractuel
- Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier

UNITE DE MEDECINE
- M. AGUILAR Pablo, Praticien hospitalier
- Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences
- M. BLOT Stéphane, Professeur*
- M. CAMPOS Miguel, Maître de conférences associé
- Mme FREICHE-LEGROS Valérie, Praticien hospitalier
- Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences

UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT
- Mme CLERO Delphine, Maître de conférences contractuel
- M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences
- M. GRANDJEAN Dominique, Professeur *
- Mme MAENHOUDT Cindy, Praticien hospitalier
- M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences

DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION
- M. PARAGON Bernard, Professeur

DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE
- Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences

UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES
- M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP)
- Mme COCHET-FAIVRE Noëlle, Praticien hospitalier
- M. GUILLOT Jacques, Professeur *
- Mme MARIGNAC Geneviève, Maître de conférences
- M. POLACK Bruno, Maître de conférences
- Mme RISCO CASTILLO Véronica, Maître de conférences (rattachée au DSBP)

UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE
- M. FAYOLLE Pascal, Professeur
- M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences
- M. MANASSERO Mathieu, Maître de conférences
- M. MOISSONNIER Pierre, Professeur
- Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Professeur *
- M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences

DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS
- Mme STEBLAJ Barbara, Praticien Hospitalier

DISCIPLINE : NOUVEAUX ANIMAUX DE COMPAGNIE
- M. PIGNON Charly, Praticien hospitalier

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)
Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Professeur - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

UNITE D'HYGIENE QUALITE ET SECURITE DES ALIMENTS
- M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Professeur
- M. BOLNOT François, Maître de conférences *
- M. CARLIER Vincent, Professeur

UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES
- Mme DUFOUR Barbara, Professeur*
- Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur
- Mme PRAUD Anne, Maître de conférences
- Mme RIVIERE Julie, Maître de conférences contractuel

UNITE DE PATHOLOGIE DES ANIMAUX DE PRODUCTION
- M. ADJOU Karim, Maître de conférences *
- M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel
- M. MILLEMANN Yves, Professeur
- Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences
- Mme ROUANNE Sophie, Praticien hospitalier

UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE
- Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences*
- M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC)
- Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel
- M. MAUFFRE Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel
- Mme EL BAY Sarah, Praticien hospitalier

UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE
- M. ARNE Pascal, Maître de conférences
- M. BOSSE Philippe, Professeur*
- Mme DE PAULA REIS Alline, Maître de conférences contractuel
- Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur
- Mme LEROY-BARASSIN Isabelle, Maître de conférences
- M. POINTER Andrew, Professeur
- Mme WOLGUST Valérie, Praticien hospitalier

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)
Chef du département : M. CHATEAU Henry, Professeur - Adjoint : Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences

UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES
- M. CHATEAU Henry, Professeur*
- Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur
- M. DEGUEURCE Christophe, Professeur
- Mme ROBERT Céline, Maître de conférences

UNITE DE BACTERIOGOLIE, IMMUNOLOGIE, VIROLOGIE
- M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur*
- Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences
- Mme LE ROUX Delphine, Maître de conférences
- Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur

UNITE DE BIOCHIMIE
- M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences*
- Mme LAGRANGE Isabelle, Praticien hospitalier
- M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences

DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE
- M. PHILIPS Pascal, Professeur certifié

DISCIPLINE : ETHOLOGIE
- Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences

UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE
- Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences
- M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur*

UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE
- Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences*
- M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur
- Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel
- M. REYES GOMEZ Edouard, Maître de conférences

UNITE DE MANAGEMENT, COMMUNICATION, OUTILS SCIENTIFIQUES
- Mme COHAN Muriel, Professeur certifié (Anglais)
- M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences (Biostatistiques, épidémiologie)*
- Mme FOURNIEL Christelle, Maître de conférences contractuel (Gestion et management)

UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE
- Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur
- M. PERROT Sébastien, Maître de conférences
- M. TISSIER Renaud, Professeur*

UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE
- Mme COMBRISSON Hélène, Professeur
- Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences
- M. TIRET Laurent, Professeur *

*** responsable d'unité**

REMERCIEMENTS

A mon jury de thèse,

Au Professeur de la faculté de Médecine de Créteil,
Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,
Hommage respectueux.

À Monsieur Sylvain Bellier,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui m'a fait l'honneur d'accepter la direction de ce travail,
Hommage respectueux.

A Monsieur Guillaume Belbis,
Assistant de recherche et d'enseignement contractuel à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui m'a proposé ce travail et épaulé tout au long de sa réalisation,
Pour son extrême implication dans ce travail,
Pour son aide, ses conseils, son soutien et sa disponibilité,
Sincères remerciements.

Aux membres invités,

A Fréderic Henry,
Eleveur passionné d'alpagas,
Sans qui cette étude n'aurait pas pu voir le jour,
Pour sa confiance, sa disponibilité et son extrême gentillesse,
Pour m'avoir fait découvrir l'élevage des petits camélidés,
Sincères remerciements.

A Isabelle Lagrange,
Praticienne Hospitalière en hématologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui m'a fait l'honneur de participer à ma thèse,
Pour sa patience, son encadrement et sa pédagogie tout au long des analyses,
Pour son implication, ses explications et sa disponibilité pendant la phase de rédaction,
Pour son extrême gentillesse,
Sincères remerciements.

Aux personnes qui ont participé à ce travail :

A Mmes Mireille Dubord et Bodo Adriatiana, pour l'efficacité des analyses biochimiques,

A l'unité de Biostatistiques de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse pour la conception du logiciel Reference Value Advisor, qui m'a été précieux pour l'établissement des valeurs de référence,

A ma famille,

A mes amis,

A Valentin.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES ET PHOTOGRAPHIES **5**

LISTE DES TABLEAUX **9**

INTRODUCTION **11**

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE **13**

1.1 L'ALPAGA : UN PETIT CAMELIDE D'ELEVAGE MECONNU DU GRAND PUBLIC 15

1.1.1 Origine et Evolution de l'Alpaga *15*

1.1.1.1 Place dans la classification 15

1.1.1.2 Caractéristiques morphologiques et comportementales 17

1.1.1.3 Historique de la domestication de l'Alpaga 18

1.1.2 L'élevage de l'Alpaga en France et dans le monde : enjeux et législation *19*

1.1.2.1 Les productions de l'élevage 19

1.1.2.2 Situation actuelle de l'élevage 22

1.1.2.3 Une réglementation pauvre en matière de petits camélidés 23

1.1.3 Modalités d'élevage de l'alpaga *25*

1.1.3.1 Gestion de l'environnement du cheptel 25

1.1.3.2 L'alimentation de l'alpaga 26

1.1.3.3 Gestion de la reproduction dans un cheptel d'alpaga 31

1.2 SPECIFICITES DES EXAMENS CLINIQUES ET PARACLINIQUES CHEZ L'ALPAGA 39

1.2.1 Abord, contention et examen clinique de l'animal *39*

1.2.1.1 Abord d'un alpaga en liberté 39

1.2.1.2 Contention physique de l'alpaga 40

1.2.1.3 Modalités de l'examen clinique et constantes physiologiques 41

1.2.2 Dominantes pathologiques recherchées chez l'alpaga *44*

1.2.2.1 Réceptivité et sensibilité aux grandes maladies infectieuses 44

1.2.2.2 Pathologie systémique non infectieuse 46

1.2.2.3 Dominantes pathologiques par appareil 49

1.2.3 Particularités de la ponction veineuse *58*

1.2.3.1 Notions d'anatomie de la région du cou chez les petits camélidés 58

1.2.3.2 Les sites privilégiés de ponction de la veine jugulaire 61

1.2.3.3 Autres sites possibles de prélèvements sanguins 62

1.3 ETUDES DES DONNEES CONNUES SUR LES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DE L'ALPAGA 65

1.3.1 A propos des paramètres hématologiques *65*

1.3.1.1 Rappels de bases scientifiques et techniques en hématologie générale 65
1.3.1.2 La numération formule sanguine de l'alpaga 71
1.3.1.3 Les caractéristiques morphométriques des cellules sanguines de l'alpaga 72
1.3.2 A propos des paramètres biochimiques 77
1.3.2.1 Bases en biochimie clinique 77
1.3.2.2 Données connues sur la biochimie standard de l'alpaga et sélection de quelques paramètres 77
1.3.2.3 Facteurs de variabilités des valeurs biochimiques chez les petits camélidés 80
1.3.3 De l'intérêt de la création d'une base de données hématologique et biochimique de référence pour l'alpaga 81

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE 83

2.1 MATERIEL ET METHODES 85
2.1.1 Recrutement des individus 85
2.1.1.1 Contraintes liées aux objectifs de l'étude 85
2.1.1.2 Critères d'inclusion et d'exclusion des individus 85
2.1.1.3 Déroulement d'une séance de prélèvements 86
2.1.2 Traitement des prélèvements sanguins 87
2.1.2.1 Prise en charge des tubes secs gélosés pour la réalisation des analyses biochimiques 87
2.1.2.2 Prise en charge des tubes EDTA pour la réalisation des NFS 87
2.1.2.3 Prise en charge des tubes EDTA pour la réalisation des frottis sanguins 89
2.1.3 Méthode d'analyse des résultats bruts obtenus 92
2.1.3.1 Bases théoriques de la détermination d'intervalles de référence 92
2.1.3.2 Des résultats bruts à l'obtention des intervalles de référence : description de la méthode utilisée dans cette étude 93
2.1.3.3 Traitements des données issues de l'analyse des frottis sanguins 96
2.2 TRAITEMENT DES RESULTATS BRUTS ET ETABLISSEMENT DES INTERVALLES DE REFERENCE 97
2.2.1 Détermination des intervalles de référence des variables biochimiques 97
2.2.1.1 Statistiques descriptives des résultats des analyses biochimiques 97
2.2.1.2 Transformation préalable des séries de données 100
2.2.1.3 Application des méthodes robuste et paramétrique : détermination des intervalles de référence de valeurs biochimiques 102
2.2.2 Détermination des intervalles de référence des variables hématologiques 103
2.2.2.1 Statistiques descriptives des résultats d'analyses hématologiques 103
2.2.2.2 Transformation préalable des séries de données 114
2.2.2.3 Application des méthodes paramétriques et robustes : détermination des intervalles de référence des valeurs hématologiques 117
2.2.3 Etude de la formule leucocytaire manuelle et éléments de morphologie cellulaire 120
2.2.3.1 Etude de la formule leucocytaire manuelle et comparaison aux intervalles de référence 120
2.2.3.2 Caractéristiques morphologiques des leucocytes chez l'alpaga 121

2.2.3.3 Caractéristiques de la lignée érythrocytaire chez l'alpaga 131
2.2.4 Tableau récapitulatif des résultats obtenus 136
2.3 DISCUSSION 137
2.3.1 Comparaison des résultats obtenus à ceux de la littérature 137
2.3.1.1 Analyse critique des intervalles de référence des variables biochimiques 137
2.3.1.2 Analyse critique des intervalles de référence des variables hématologiques 139
2.3.1.3 Analyse critique des résultats de morphologie cellulaire sanguine 142
2.3.2 Analyse critique et limites du protocole utilisé 143
2.3.2.1 Limites liées à la taille de l'échantillon 143
2.3.2.2 Limites liées à la méthode d'échantillonnage 143
2.3.2.3 Limites liées à la réalisation des analyses 144
2.3.3 Utilisation de la base de données créée : intérêts et limites 144
CONCLUSION 145
BIBLIOGRAPHIE 147

LISTE DES FIGURES ET PHOTOGRAPHIES

FIGURE 1 : SILHOUETTES DES QUATRE ESPECES DE PETITS CAMELIDES 15
FIGURE 2 : PLACE DE L'ALPAGA DANS LA CLASSIFICATION 16
FIGURE 3 – VUE LATERALE DROITE DE L'ENSEMBLE DES PRE-ESTOMACS ET ESTOMAC D'UN PETIT CAMELIDE 27
FIGURE 4 – DIAGRAMME REPRESENTANT LES VAGUES FOLLICULAIRE CHEZ UNE FEMELLE ALPAGA EN L'ABSENCE DE STIMULATION SEXUELLE 31
FIGURE 5 – DIAGRAMME D'EVOLUTION DES ADHERENCES PREPUTIALES CHEZ LES CAMELIDES DE LA NAISSANCE A LA MATURITE SEXUELLE 33
FIGURE 6 - POSITION NORMALE DU CRIA AU MOMENT DE LA PARTURITION 36
FIGURES 7 ET 8 - INDICATIONS DONNEES PAR LES DIVERSES POSITIONS DES OREILLES ET DE LA QUEUE CHEZ LE LAMA 39
FIGURE 9 – ILLUSTRATION DE LA TECHNIQUE DE COUCHAGE DE L'ALPAGA 41
FIGURE 10 – ILLUSTRATION DE LA ZONE D'AUSCULTATION DU CHAMP PULMONAIRE GAUCHE D'UN ALPAGA 43
FIGURE 11 – SITES PRIVILEGIES D'OBSTRUCTIONS URETRALES CHEZ LES PETITS CAMELIDES 55
FIGURE 12 – VASCULARISATION DE LA TETE DU CHAMEAU ET DEPART DE LA VEINE JUGULAIRE 58
FIGURE 13 – RAPPORTS ANATOMIQUES DE LA VEINE JUGULAIRE APRES SON DEPART 59
FIGURE 14 - SCHEMA D'UNE COUPE TRANSVERSALE DE COU AU NIVEAU DE LA SIXIEME VERTEBRE CERVICALE 60
FIGURE 15 – SITES PRIVILEGIES DE PONCTION DE LA VEINE JUGULAIRE CHEZ L'ALPAGA 61
FIGURE 15 – TECHNIQUE D'ETALEMENT POUR UN FROTTIS SANGUIN 67
FIGURE 16 – GRILLE D'IDENTIFICATION DES CELLULES SANGUINES 69
FIGURE 17 – MORPHOMETRIE ILLUSTREE DES CELLULES SANGUINES DU LAMA 75
FIGURE 18 - EXEMPLE DE RESULTAT DE NUMERATION-FORMULE SANGUINE DONNE PAR L'AUTOMATE SYSMEX XT-2000IV 88
FIGURE 19 – EXEMPLE DE RAPPORT D'ANALYSE PRODUIT PAR REFVALADV POUR LA VARIABLE « CREATININE » 95
FIGURE 20 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « CREATININE » 98
FIGURE 21 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « UREE » 99
FIGURE 22 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « GLUCOSE » 99
FIGURE 23 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « ASAT » 99
FIGURE 24 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « CK » 100
FIGURE 25 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « GGT » 100
FIGURE 26 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « NUMERATION LEUCOCYTAIRE » 105
FIGURE 27 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « NUMERATION GLOBULAIRE » 106
FIGURE 28 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « TAUX D'HEMOGLOBINE » 106

FIGURE 29 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « HEMATOCRITE AUTOMATIQUE » ... 106
FIGURE 30 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « VGM AUTOMATIQUE » ... 107
FIGURE 31 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « TGMH » ... 107
FIGURE 32 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « CCMH AUTOMATIQUE » ... 107
FIGURE 33– HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « HEMATOCRITE MANUEL » ... 108
FIGURE 34 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « VGM MANUEL » ... 108
FIGURE 35 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « CCMH MANUEL » ... 108
FIGURE 36– HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « NUMERATION PLAQUETTAIRE » ... 109
FIGURE 37 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « RDW-SD » ... 109
FIGURE 38 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « RDW-CV » ... 109
FIGURE 39 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « NUMERATION NEUTROPHILIQUE » 110
FIGURE 40 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « POURCENTAGE DE NEUTROPHILES » ... 110
FIGURE 41 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « NUMERATION LYMPHOCYTAIRE » . 110
FIGURE 42 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « POURCENTAGE DE LYMPHOCYTES» ... 111
FIGURE 43 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « NUMERATION MONOCYTAIRE » ... 111
FIGURE 44 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « POURCENTAGE DE MONOCYTES» .. 111
FIGURE 45 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « NUMERATION EOSINOPHILIQUE » 112
FIGURE 46 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « POURCENTAGE D'EOSINOPHILES » 112
FIGURE 47 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « NUMERATION BASOPHILIQUE » 112
FIGURE 48 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « POURCENTAGE DE BASOPHILES » . 113
FIGURE 49 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « POURCENTAGE DE RETICULOCYTES » ... 113
FIGURE 50 – HISTOGRAMME DE DISTRIBUTION DES VALEURS DE LA VARIABLE « NUMERATION RETICULOCYTAIRE» 113

PHOTOGRAPHIE 1 - ALPAGA DE RACE HUACAYA ... 17
PHOTOGRAPHIE 2 - ALPAGA DE RACE SURI ... 17
PHOTOGRAPHIES 3 ET 4 - ALPAGAS PRESENTES EN CONCOURS D'OBSTACLE AU CONCOURS A.F.L.A* A LA BRESSE EN 2006 (A GAUCHE) ET A LAGESSE EN 2013 (A DROITE) ... 21
PHOTOGRAPHIE 5 – ABRI OUVERT SUR L'EXTERIEUR INSTALLE POUR UN TROUPEAU D'ALPAGAS ET DE LAMAS ... 25
PHOTOGRAPHIE 6 – ALPAGAS REUNIS SUR UNE AIRE DE DEFECATION ... 26
PHOTOGRAPHIE 7 – POSITION CLASSIQUE D'ACCOUPLEMENT ENTRE DEUX ALPAGAS ... 34
PHOTOGRAPHIE 8 - PARTIE DISTALE D'UN GLAND DE CAMELIDE ... 34
PHOTOGRAPHIE 9 – MEMBRANE EPIDERMALE DESOLIDARISEE DE SES ATTACHES FACIALES SUR UN FŒTUS DE LAMA EN FIN DE GESTATION ... 37

PHOTOGRAPHIES 10 ET 11 – METHODES DE CONTENTION INDIVIDUELLE DE L'ALPAGA 40
PHOTOGRAPHIE 12 - VALVE ANTI – REFLUX PRESENTE DANS LA PARTIE HAUTE DU COU DES CAMELIDES, ENVIRON 5 CM CAUDALEMENT AU DEPART DE LA VEINE JUGULAIRE 61
PHOTOGRAPHIE 13 – PONCTION VEINEUSE A L'OREILLE SUR UN LAMA 63
PHOTOGRAPHIE 13 – ANALYSEUR AUTOMATIQUE DU LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE DE L'ENVA 88
PHOTOGRAPHIE 14 – FROTTIS SANGUINS D'ALPAGAS APRES ETALEMENT ET SANS COLORATION 89
PHOTOGRAPHIE 15 – MATERIEL UTILISE POUR LA COLORATION DES LAMES PAR LA TECHNIQUE DE MGG 90
PHOTOGRAPHIE 16 - MORPHOLOGIE CLASSIQUE D'UN GRANULOCYTE NEUTROPHILE D'ALPAGA 122
PHOTOGRAPHIES 17 ET 18 - NEUTROPHILES POSSEDANT UN NOYAU HYPERSEGMENTE 122
PHOTOGRAPHIES 19 ET 20 - CORPUSCULES DE BAAR PRESENTS SUR LES NOYAUX DES NEUTROPHILES CHEZ DES FEMELLES ALPAGAS 123
PHOTOGRAPHIE 21 - NODULE MINEUR DE CHROMATINE OBSERVE SUR LE NOYAU D'UN NEUTROPHILE CHEZ UN MALE ALPAGA 124
PHOTOGRAPHIES 22 ET 23 – GRANULOCYTES EOSINOPHILES A NOYAU BILOBE (A GAUCHE) ET TRILOBE (A DROITE) CHEZ UN ALPAGA 125
PHOTOGRAPHIE 24 – GRANULOCYTE EOSINOPHILE A NOYAU EN COURONNE CHEZ UN ALPAGA 125
PHOTOGRAPHIES 25, 26 ET 27 – GRANULOCYTES BASOPHILES D'ALPAGAS 127
PHOTOGRAPHIE 28 – PETIT LYMPHOCYTE A GRAINS D'ALPAGA 128
PHOTOGRAPHIES 29 ET 30 – LYMPHOCYTES MOYENS D'ALPAGA : SANS GRAIN (A GAUCHE) ET A GRAINS (A DROITE) 128
PHOTOGRAPHIES 31 ET 32 – GRANDS LYMPHOCYTES A GRAINS D'ALPAGA 129
PHOTOGRAPHIES 33, 34, 35 ET 36 – MONOCYTES OBSERVES CHEZ L'ALPAGA 130
PHOTOGRAPHIE 37 – HEMATIES D'ALPAGA EN COLORATION MGG 131
PHOTOGRAPHIES 38 ET 39 – PONCTUATIONS BASOPHILES DANS DES HEMATIES D'ALPAGAS COLOREES AU BLEU DE CRESYL BRILLANT 132
PHOTOGRAPHIES 40 ET 41 – PONCTUATIONS BASOPHILES DANS DES HEMATIES D'ALPAGAS COLOREES PAR LA TECHNIQUE DE MGG 132
PHOTOGRAPHIES 42 ET 43 – HEMATIES D'ALPAGA OBSERVEES SUR UNE LAME « TESTSIMPLETS ® » 133
PHOTOGRAPHIES 44 ET 45 – RETICULOCYTES OBSERVES CHEZ L'ALPAGA 134

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 – QUELQUES VIROSES CONNUES CHEZ LES PETITS CAMELIDES, DONT LA REPONSE SEROLOGIQUE A ETE MISE EN EVIDENCE 44
TABLEAU 2 – ETUDE COMPARATIVE DES RESULTATS OBTENUS PAR LES DEUX ETUDES DE NUMERATION FORMULE SANGUINE MENEE SUR DES ALPAGAS 71
TABLEAU 3 – ETUDE COMPARATIVE DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES DU LAMA, DE LA VACHE ET DU CHEVAL... 72
TABLEAU 4 – MORPHOMETRIE DES CELLULES SANGUINES CHEZ LE LAMA 73
TABLEAU 5 – ETUDE COMPARATIVE DES RESULTATS OBTENUS DANS LES DIFFERENTES ETUDES ET PUBLICATIONS POUR LES PARAMETRES BIOCHIMIQUES D'INTERET CHEZ LE LAMA ET L'ALPAGA 79
TABLEAU 6 – FICHE UTILISEE COMME GUIDE POUR LE RECRUTEMENT DES INDIVIDUS DANS L'ETUDE 86
TABLEAU 7 – CARACTERISTIQUES CELLULAIRES LEUCOCYTAIRES RECHERCHEES LORS DE L'OBSERVATION DES LAMES COLOREES AU M.G.G. 91
TABLEAU 8 – STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES RESULTATS D'ANALYSES 98
TABLEAU 9 – IDENTIFICATION ET RETRAIT DES VALEURS ABERRANTES DES VARIABLES BIOCHIMIQUES – CONSEQUENCES SUR P 101
TABLEAU 10 – TABLEAU RECAPITULATIF DES TRANSFORMATIONS APPLIQUEES AUX SERIES DE DONNEES 101
TABLEAU 11 – INTERVALLES DE REFERENCE CALCULES POUR LES VALEURS BIOCHIMIQUES DE L'ALPAGA 102
TABLEAU 12 – STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES RESULTATS D'ANALYSES HEMATOLOGIQUES 104
TABLEAU 13 – IDENTIFICATION ET RETRAIT DES VALEURS ABERRANTES, CONSEQUENCES SUR LA VALEUR DE P 114
TABLEAU 14 – UTILISATION DE LA TRANSFORMATION DE BOX-COX SUR LES VARIABLES DONT P < 0,05 115
TABLEAU 15 – TABLEAU RECAPITULATIF DES TRANSFORMATIONS APPLIQUEES A CHAQUE SERIE DE DONNEES AVANT APPLICATION DE LA METHODE DE DETERMINATION DES INTERVALLES DE REFERENCE 116
TABLEAU 16 – INTERVALLES DE REFERENCE CALCULES POUR LES VALEURS HEMATOLOGIQUES DE L'ALPAGA 117
TABLEAU 17 - STATISTIQUES DESCRIPTIVES DES RESULTATS OBTENUS ET COMPARAISON DE LA FORMULE LEUCOCYTAIRE MANUELLE AUX INTERVALLES DE REFERENCE CALCULES 120
TABLEAU 18– RAPPEL DES INTERVALLES DE REFERENCE CALCULES POUR LE POURCENTAGE DE RETICULOCYTES 135
TABLEAU 19 – TABLEAU RECAPITULATIF DES INTERVALLES DE REFERENCE DES VARIABLES HEMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES OBTENUS CHEZ L'ALPAGA 136
TABLEAU 20 – TABLEAU COMPARATIF DES INTERVALLES DE REFERENCE DES VARIABLES BIOCHIMIQUES DE L'ALPAGA DANS LA LITTERATURE ET DANS NOTRE ETUDE 137
TABLEAU 21 - TABLEAU COMPARATIF DES INTERVALLES DE REFERENCE DES VARIABLES HEMATOLOGIQUES DE L'ALPAGA DANS LA LITTERATURE ET DANS NOTRE ETUDE 139
TABLEAU 22 – ANALYSE CRITIQUE DES INTERVALLES DE REFERENCE OBTENUS DANS L'ETUDE 141

INTRODUCTION

Depuis une trentaine d'années, l'élevage de l'alpaga a vu le jour sur le territoire français. Encore méconnu du grand public, cet animal original d'origine Sud-Américaine était initialement utilisé dans les tribus Incas pour la fabrication de vêtements, mais aussi pour le transport et pour sa viande. Actuellement, en France, l'élevage de l'alpaga vise principalement la production de fibres textiles de luxe et la commercialisation de nouveaux animaux de compagnie à haute valeur économique.

Face au développement émergent de ce type d'élevage, les vétérinaires sont de plus en plus fréquemment confrontés à consulter ces animaux, pour lesquels ils n'ont pour la plupart reçu aucune formation, tant sur les modalités d'élevages que sur ses particularités physiologiques. Tout comme sur le terrain, l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort reçoit fréquemment des alpagas en hospitalisation. Si l'examen clinique d'entrée est parfois évocateur, des examens sanguins sont souvent nécessaires. Malheureusement, l'interprétation des résultats est difficile, car peu de données bibliographiques sur les paramètres sanguins de l'alpaga sont disponibles. Aucune étude européenne n'est même disponible sur le sujet.

L'objectif de cette thèse est à la fois de faire la synthèse pour les vétérinaires praticiens des données disponibles sur l'élevage de l'alpaga en France et d'établir expérimentalement une base de données de valeurs de référence hématologiques et biochimiques pour le service d'hospitalisation des grands animaux de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

Cette thèse s'articule en deux parties. La première partie sera consacrée à la synthèse des données bibliographiques disponibles sur la gestion sanitaire et zootechnique de l'élevage de l'alpaga. La seconde partie sera consacrée à l'étude expérimentale menée à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort en partenariat avec un élevage d'Ile de France afin de déterminer des intervalles de référence pour les variables hématologiques et biochimiques et les particularités morphologiques des cellules sanguines de l'alpaga.

PREMIERE PARTIE :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

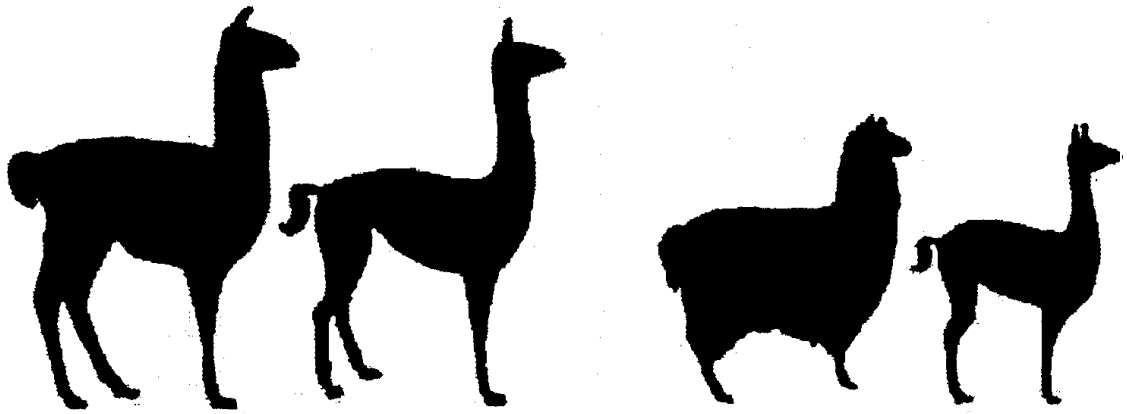
1.1 – L'Alpaga : un petit camélidé d'élevage méconnu du grand public

1.1.1 - Origine et Evolution de l'Alpaga

1.1.1.1 – Place dans la classification

L'alpaga fait partie de la famille des petits Camélidés sud-américains. Cette famille est aussi composée de trois autres espèces que sont le lama, le plus connu de tous, le guanaco et la vigogne. Alors que l'alpaga et le lama sont deux espèces domestiques, le guanaco et la vigogne n'existent qu'à l'état sauvage. La figure 1 ci-dessous représente la silhouette des membres de cette famille.

Figure 1 : Silhouettes des quatre espèces de petits Camélidés (Serin, 2008)



De gauche à droite : Lama, Guanaco, Alpaga, Vigogne

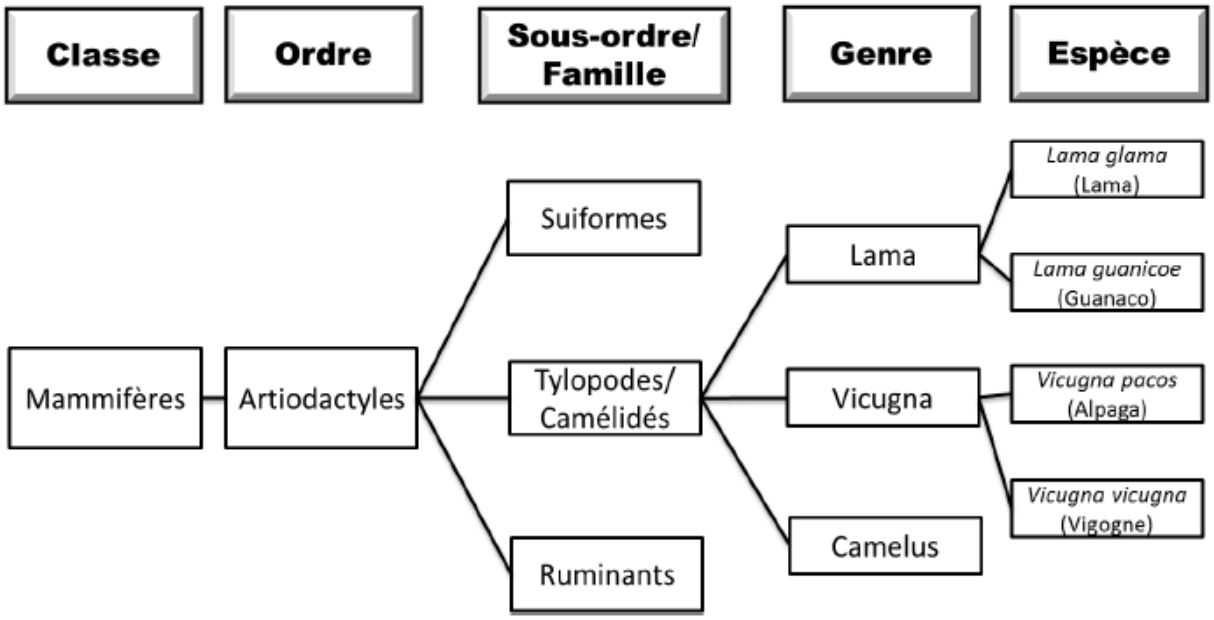
Comme le montre la figure 2 ci-après, ces quatre espèces sont des mammifères appartenant à l'ordre des Artiodactyles (espèces ongulées possédant un nombre de doigts pairs), puis au sous-ordre des Tylopodes (Portemer, 2012). Les tylopodes sont des artiodactyles qui n'ont pas de sabots vrais mais un coussinet élastique épais et résistant. Ils ne possèdent qu'une seule paire de mamelle et sont dépourvus de cornes. Ils ruminent mais ne sont pas considérés comme des Ruminants vrais, car leur estomac est seulement divisé en 3 parties, dont la première partie s'apparente au rumen et la partie terminale de la dernière partie à la caillette des ruminants (Azzopardi, 2012). Les seuls représentants actuels de ces tylopodes dont des Camélidés.

Au sein du groupe des Camélidés, on distingue les grands Camélidés (du genre *Camelus*) des petits Camélidés, appelés aussi Camélidés sud-Américains. Ces derniers se distinguent du genre *Camelus* par leur petite taille, des oreilles plus longues, une queue plus courte et l'absence de bosse sur le dos.

Au sein du groupe des petits Camélidés, la classification des quatre espèces, a longtemps été controversée. Certains auteurs classent le guanaco, le lama et l'alpaga dans le genre *Lama* et la vigogne dans le genre *Vicugna* d'autres classent les quatre espèce sous le genre *Lama* (Fowler, 2010a).

Depuis 2001, une étude basée sur des fragments d'ADN microsatellites a montré que le lama descendait du guanaco alors que l'alpaga descendait de la vigogne. Classiquement appelé *Lama pacos*, l'alpaga devrait alors se voir nommer *Vicugna pacos* (Kadwell *et al*., 2001). A l'heure actuelle, la Commission Internationale de Nomenclature Zoologique fait exception à la règle selon laquelle l'espèce doit porter le nom du genre dont elle descend, pour 17 espèces dont l'Alpaga. Le nom latin officiel de l'alpaga reste donc *Lama pacos*, mais *Vicugna pacos* est fréquemment utilisé dans la littérature scientifique (Serin, 2008). Toutes ces considérations expliquent donc la place de l'alpaga dans la classification des espèces, modélisée ci-dessous par la figure 2.

Figure 2 : Place de l'alpaga dans la classification (Portemer, 2012)



1.1.1.2 – Caractéristiques morphologiques et comportementales

Souvent vu par le grand public comme un « petit lama », l'alpaga se différencie morphologiquement par bien des points de ce dernier. Deuxième plus petit camélidé après la vigogne, l'alpaga mesure environ 1m au garrot pour un poids entre 45 et 80 kg. La face est laineuse et porte deux petites oreilles courtes et plutôt pointues contrairement à celles du lama. La croupe est arrondie et son corps porte des membres courts et des pieds plus fragiles que ceux des lamas. La laine de l'alpaga est une laine de grande qualité par rapport à celle du lama. Elle permet de distinguer deux sous espèces d'alpagas :

- Les alpagas Huacaya, dont les fibres sont plus courtes et plus frisées, représentés sur la photographie 1. Ils représentent 90% des alpagas élevés dans les Andes et sont aussi les plus communément rencontrés dans les élevages français.
- Les alpagas Suri, dont les longues fibres fines, brillantes et peu frisées dépassent de chaque côté du corps, représenté sur la photographie 2.

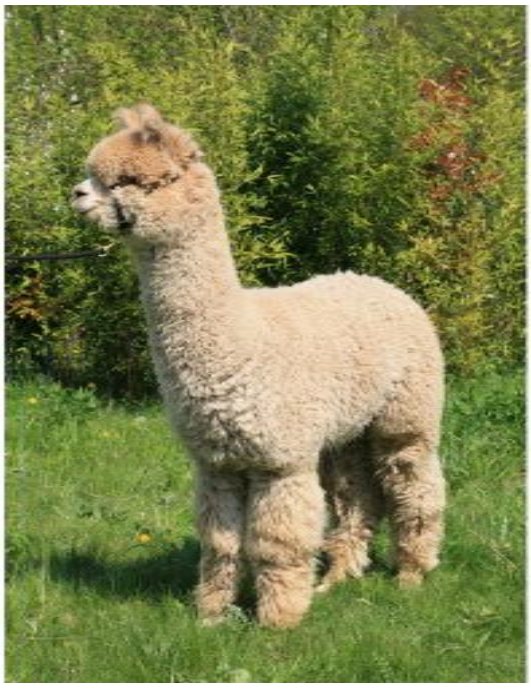
Dans les deux sous-espèces, toutes les couleurs de toison sont admises.

Photographie 1 - Alpaga de race Huacaya

(Henry, 2008)

Photographie 2 - Alpaga de race Suri

(Portemer, 2012)



L'alpaga est un animal fondamentalement grégaire : il vit en groupe dans lequel une structure sociale forte et hiérarchisée est établie. En effet, au pâturage, quelques éléments guetteurs du groupe se placent en périphérie du reste du troupeau en position d'éveil, à l'affût du danger. Les communications intra-spécifiques se basent sur des modifications de posture de la tête, de la queue et des oreilles principalement (Serin, 2008).

Ce mode de communication peut être utile aussi à l'Homme qui côtoie les alpagas, éleveurs ou vétérinaires, afin de détecter des postures d'attaque ou de bien-être. Par exemple, un alpaga présentant des oreilles campées sur la nuque, le museau relevé et la queue dressée à la verticale est en posture d'attaque, alors qu'une posture de bien-être sera plutôt marquée par des oreilles dressées vers l'avant et une queue posée sur le périnée (Soly, 2005).

1.1.1.3 – Historique de la domestication de l'Alpaga

Au cours de l'évolution, les premières traces des camélidés apparaissent il y a environ 82 millions d'années, pendant l'Eocène supérieur sur le territoire actuel des Etats-Unis, avec trois groupes majeurs, dont deux vivants à l'Ouest du Mississipi et un troisième retrouvé jusqu'en Floride. Au cours du Pléistocène, ère marquée par de nombreux épisodes de glaciations, eut lieu une migration décisive dans l'histoire des Camélidés. En effet, il y a environ 3 millions d'années, l'extension des pâturages permise par le réchauffement climatique engendra une migration des ancêtres du genre *Camelus* vers le territoire actuel de l'Asie du Sud et des ancêtres des genres *Lama* et *Vicugna* vers l'Amérique du Sud (Fowler, 2010a).

La domestication des lamas et des alpagas aurait alors eu lieu bien plus tard dans les hauts plateaux de la Cordillère des Andes. En archéologie, la datation des évènements s'exprime en années « Before Present » (BP), ce qui désigne le nombre d'années comptées vers le passé à partir de l'année 1950. La domestication de l'alpaga, plus précoce que celle du lama, serait estimée entre 6000 et 4500 ans BP à des altitudes supérieures à 4000 m (Serin, 2008), probablement dans la région de Telamarchay (Fowler, 2010a).

L'élevage du lama et de l'alpaga est alors rapidement devenu une ressource primordiale pour l'empire Inca, ces animaux étant alors utilisés à la fois pour le transport, la production de vêtements, de viande mais étant aussi l'objet de sacrifices lors des cérémonies religieuses. L'élevage a connu son apogée au XIIème et XIIIème siècle, le nombre de têtes étant estimé à plus de 30 millions (Serin, 2008). A cette époque, l'export de ces animaux était interdit (Fowler, 2010a).

En 1532, la conquête des territoires sud-américains par les espagnols fit grandement diminuer le cheptel de camélidés et l'importance de leur territoire. Ceci s'explique notamment par l'importation d'animaux d'élevages européens comme le mouton, nécessitant un fourrage de meilleur qualité et donc des fourrages de plaines, faisant ainsi reculer lamas et alpagas dans les terrains escarpés uniquement, mais aussi par l'importation de la gale, qui a décimé à cette époque un tiers du cheptel des camélidés. Cependant, l'empire Inca s'étant créé une véritable dépendance vis-à-vis de ces animaux dans leur quotidien, ces derniers ont persisté sur le territoire (Serin, 2008).

Après une réforme importante du régime agricole qui eut lieu au Pérou en 1970, les exportations d'alpagas et de lamas devinrent légales. Des exportations illégales avaient eu lieu auparavant, notamment aux Etats-Unis dans les années 1930, et dans d'autres pays d'Amérique du Sud, principalement pour les zoos (Fowler, 2010a).

Ainsi, cet animal d'Amérique du Sud a été introduit sur les territoires européens dans les années 1980, dont la France, où l'élevage de l'alpaga a réellement débuté il y a environ une trentaine d'années.

1.1.2 - L'élevage de l'Alpaga en France et dans le monde : enjeux et législation

1.1.2.1 - Les productions de l'élevage

Sous l'empire Inca, l'alpaga était utilisé pour toutes les tâches du quotidien : il était à la fois animal de bât, source de fibres textiles, source de viande, objet de cérémonie etc. Aujourd'hui, l'élevage de l'alpaga est majoritairement orienté vers la production de fibres textiles aux qualités particulières.

- **La fibre textile** (Serin, 2008),(Fowler, 2010b), (AFLA, 2014)

Depuis les débuts de la domestication, une des principales qualités reconnues de l'alpaga est la haute qualité de la fibre qu'il produit. Appelée à tort « laine », ce terme ne se réserve en réalité qu'à la toison du mouton, alors que celle de l'alpaga est nommée « fibre d'alpaga » ou simplement « alpaga ».

La toison de l'alpaga est composée de 3 types de poils :

- Le poil fin, poil non médullaire, mesurant moins de 25 µm de diamètre et issu d'un follicule composé.
- Le poil intermédiaire, au canal médullaire interrompu, mesurant entre 26 et 33µm de diamètre, et issu d'un follicule composé. Ce poil constitue la majeure partie de la toison de l'alpaga
- Le poil grossier, présentant un canal médullaire complet, présentant un diamètre supérieur à 34 µm et issu d'un follicule simple.

Les poils fins et intermédiaires constituent la « fibre fine », la plus recherchée et utilisée pour la confection de vêtements ou de textiles au contact de la peau. La fibre grossière doit rester mineure dans la toison de l'alpaga et peut être utilisée pour la confection de couvertures ou d'attributs non directement au contact direct de la peau.

La répartition de la laine d'alpaga suit une topographie particulière : en effet la zone de la ligne du dos et des flancs est la zone de la toison la plus noble, des fibres les plus fines, suivie par la zone du cou. Enfin la zone du garrot, des membres et de la queue est souvent plus fournie en poils grossiers et souillés.

La fibre d'alpaga présente la particularité de posséder une cuticule composée de micro-écailles bien alignées et moins hautes que celles de la laine, offrant alors peu de résistance au toucher et donc une grande douceur. Elles contiennent par ailleurs des micro-poches d'air conférant à la fibre une grande légèreté et un bon pouvoir isolant. De plus, il s'agit de la fibre naturelle la plus résistante après le mohair, ce qui la rend très adaptée au processus industriel.

Du point de vue esthétique, une grande gamme de couleur est connue dans la toison d'alpaga et les micro-écailles peu saillantes de la cuticule offrent ainsi à la fibre une brillance très recherchée.

Ainsi, la qualité de la toison d'un alpaga est appréciée sur sa finesse, sa brillance, sa densité, la longueur, son uniformité mais aussi sur son « crimp » (terme utilisé pour désigner la qualité de l'ondulation de la fibre, sa fréquence, son amplitude et sa régularité le long de la fibre chez les alpagas Huacayas) ou son « curl » (terme utilisé pour désigner la qualité des boucles lâches formées par plusieurs fibres chez les alpagas Suris).

Cette fibre aux qualités hors du commun est un objet commercial de grande valeur, se plaçant parmi les fibres textiles animales les plus nobles devant le cachemire. Du point de vue économique, la production de fibre d'alpaga représente 10% de la production de fibre animale mondiale. Elle est la première source de revenus des éleveurs andins et joue un rôle important dans l'économie péruvienne qui détient le monopole des exportations, sous forme de produits finis ou de fibres semi-transformées.

➢ La viande

Peu connue sous les latitudes européennes, la viande d'alpaga est pourtant une viande dont les qualités pourraient plaire aux exigences de ses habitants.

En effet, elle était autrefois consommée sur les plateaux Andins sous forme fraîche ou de viande séchée au soleil et salée appelée *charqui* (viande désossée) ou *chalona* (viande non désossée), qui était utilisée à la fois pour la consommation familiale de l'éleveur mais aussi des échanges contre d'autres produits agricoles (Celestino, 1998). En effet, si la viande d'alpaga n'était pas la source principale de revenus des éleveurs andins, elle représentait une source secondaire, permettant d'exploiter la production terminale de l'animal. Cependant, la plupart des animaux abattus étaient ceux considérés comme des « non-valeurs économiques », c'est-à-dire ceux qui produisaient peu de fibres, dont l'aptitude au transport était mauvaise etc., ou des animaux âgés, ce qui diminuait alors considérablement la qualité de la viande produite (Serin, 2008),(Celestino, 1998). La viande d'alpaga était néanmoins plus appréciée que celle de lama, l'alpaga étant plus sélectif dans son comportement alimentaire que son cousin. En effet, dans les Andes, tandis que le lama sélectionne peu le type d'herbe broutée, l'alpaga pâture préférentiellement les prairies (Celestino, 1998).

De récentes études sur les qualités nutritionnelles de l'alpaga ont montré que sa viande était une viande rouge pauvre en graisse et en cholestérol (Cristofanelli *et al*., 2004) mais riche en acides gras essentiels ω3-ω6, sa teneur en protéines avoisinant de plus celle de la viande de bœuf (Salvá *et al*., 2009).

Peu consommée actuellement en Europe, des normes d'abattage européenne créées par la Commission des Nations Unies pour l'Europe existent cependant pour les viandes de lama et d'alpaga depuis 2006 et facilite donc les échanges et les exports (Commission économique des Nations Unies pour l'Europe, 2008).

➢ Les concours (Richard, 2014), (Henry, 2008)

Des concours de petits camélidés existent dans le monde entier et notamment en France depuis 1997. Ils permettent aux éleveurs au travers de différentes épreuves de suivre l'évolution de l'espèce tant sur sa conformation, sur sa qualité de fibre que sur sa maniabilité.

Au cours des épreuves de type « Modèles et Allures », les alpagas sont répartis en différentes classes en fonction du sexe, du type et éventuellement de la couleur si le nombre de participants engagés est suffisant, puis des groupes sont réalisés en fonction de l'âge des animaux. Les animaux sont jugés les uns par rapport aux autres sur la qualité de leur toison mais aussi sur leur conformation et leurs allures. L'importance accordée à la toison est fonction du pays juge. En France, comme dans plusieurs autres pays européens, elle compte pour 50%, soit autant que la conformation de l'animal. Les animaux arrivés premier de leur groupe sont ensuite sélectionnés pour participer à l'épreuve des « Grands Champions », qui désigne le premier de la classe, tout âge confondu.

Celui-ci est alors sélectionné pour participer à l'épreuve « Best of Show », qui désigne le premier animal quel que soit son type, son sexe, sa couleur et son âge. Ce type de concours existe à l'échelle nationale mais aussi à l'échelle du continent, que ce soit en Europe ou en Amérique. L'épreuve « Modèles et Allures » est l'épreuve reine de l'élevage, car elle combine le jugement de plusieurs éléments importants du phénotype de l'animal. Elle se place donc comme une pièce maitresse dans la sélection des reproducteurs et joue un rôle important dans l'évolution donnée à l'espèce.

Au cours des épreuves de descendance, c'est la capacité d'un reproducteur à transmettre les qualités de son phénotype qui est jugée. Pour la descendance du mâle, on juge 3 animaux issus de celui-ci et d'au moins deux mères différentes, alors que pour la descendance de la femelle, seuls deux animaux issus de deux étalons différents sont jugés. Le plus souvent, les animaux reproducteurs dont sont issus les animaux jugés ne sont pas présents sur le lieu du concours, mais c'est une épreuve très intéressante pour les éleveurs, car elle permet de repérer les animaux capables de transmettre un phénotype particulier. Le jugement s'effectue pour 50% sur la conformation et pour 50% sur la qualité de la fibre.

Il existe aussi des épreuves d'agilité, que sont les concours d'obstacle, qui peuvent mêler à la fois lamas et alpagas et qui jugent uniquement du niveau de dressage et du mental de l'animal. En effet, ces épreuves nécessitent une bonne maniabilité et une bonne entente avec le meneur. Les photographies 3 et 4 illustrent des exemples d'obstacle à franchir. Dans ce type de concours, les animaux sont classés par âge mais aussi par expérience (débutants ou confirmés).

Photographies 3 et 4 - Alpagas présentés en concours d'obstacle au concours A.F.L.A* à La Bresse en 2006 (à gauche) et à Lagesse en 2013 (à droite) (AFLA, 2014)

** A.F.L.A : Association Francaise Lamas et Alpagas*

Ainsi, si l'élevage de l'alpaga est majoritairement et initialement orienté vers la production de fibres textiles, il a permis le développement d'autres activités autour de l'espèce, qui permettent d'assurer le suivi de son évolution et la promotion de celle-ci auprès du grand public. Il n'est d'ailleurs plus rare en zone rurale ou rurbaine de voir un ou plusieurs alpagas paître dans le jardin de particuliers, qui en font un animal de compagnie original.

1.1.2.2 – Situation actuelle de l'élevage

- **Dans le monde**

Actuellement, plus de 85% du cheptel mondial d'alpaga vit au Pérou, dans les plateaux andins. Le Pérou est en effet le principal producteur mondial de petits camélidés, avec plus de 5 millions de tête sur son territoire, dont plus de 3 millions sont des alpagas. Pour ce pays, l'intérêt de l'élevage de petits camélidés réside principalement dans la production de fibres textiles, qui représentent plus de 1,3% des exportations totales du pays et plus de 2% du PIB manufacturier sur les 12 dernières années.

Cependant le Pérou ne détient plus l'exclusivité de la production d'alpaga, les Etats-Unis et la Nouvelle-Zélande ayant en effet pris une part discrète mais nouvelle sur ce marché. En effet, les Etats-Unis comptent à ce jour plus de 35 000 têtes d'alpagas, suivis par l'Australie, la Nouvelle Zélande et l'Europe.

Dans le domaine du recensement, des données précises sur les alpagas semblent cependant complexes à recueillir, les chiffres variant grandement d'une publication à une autre. Ceci tient probablement au fait qu'aucune déclaration règlementaire n'a encore été mise en place de manière obligatoire notamment en Europe, continent sur lequel l'élevage d'alpagas débute depuis une quarantaine d'années (« Ministère de l'Agriculture - Pérou », 2013).

- **L'essor de l'élevage en France**

L'importation de l'alpaga depuis les Andes étant devenu légale depuis 1980 (Fowler, 2010a), le territoire français a vu naître très progressivement un engouement pour ce petit camélidé original, les premiers élevages datant des années 90. Les éleveurs professionnels ou amateurs se sont regroupés autour d'associations comme l'A.L.F (Association Lamas et Alpagas de France), née en 1986 et l'A.F.P.C. (Association Française des Petits Camélidés), née en 1994. Ces associations créées par des propriétaires ou éleveurs de petits camélidés cherchent à promouvoir cet élevage naissant et permettent de mettre en commun les connaissances et expériences de chacun sur le sujet. Elles organisent les premiers rassemblements d'éleveurs ou d'amateurs, permettant ainsi la création d'un réseau (AFLA, 2014).

Peu de données sont disponibles sur la population d'alpagas en France avant 2004, mais l'élevage de l'alpaga a connu un essor important dans les années 2000, passant d'environ 1000 têtes en 2004, (Azzopardi, 2012) à plus de 4000 têtes recensées en 2009 (« LAREU Homepage », 2013).

En 2010, l'A.F.L. et l'A.F.P.C fusionnent pour devenir l'A.F.L.A (Association Française Lamas et Alpagas), qui soutient les mêmes causes que les deux associations dont elle est issue et qui prend une part importante dans la filière Alpaga en France. Actuellement, elle compte plus de 200 membres actifs, éleveurs professionnels ou amateurs (AFLA, 2014).

En France, le réseau Alpaga s'est principalement organisé autour de nombreuses associations qui soutiennent cet élevage nouveau et promeuvent le développement de la filière textile, comme les associations *Alpalaine* (« Association ALPALAINE », 2012) ou *Alpaga Développement* (« Association Alpaga Developpement », 2014).

Ainsi dans une logique de valorisation des espaces verts, l'élevage d'alpagas a connu un essor dans les 30 dernières années en France. Cependant les textes en vigueur concernant celui-ci sont encore pauvres voir absents, ce qui constitue un frein non négligeable à une meilleure organisation du réseau et au développement de nouveaux élevages.

1.1.2.3 – Une réglementation pauvre en matière de petits camélidés

Malgré le développement récent de la filière alpaga en France, la législation concernant l'élevage des petits camélidés n'a pas subi d'évolution concomitante. Peu d'obligations reposent encore sur l'éleveur, et notamment au niveau sanitaire.

- **Déclaration des animaux**

D'après l' « Arrêté du 11 août 2006 fixant la liste des espèces, races ou variétés d'animaux domestiques » (Journal Officiel n°233 du 7 octobre 2006, page 14920), l'alpaga, tout comme le lama est considéré en France comme étant un animal domestique. Il découle donc de cette considération qu'il n'est pas nécessaire de posséder un certificat de capacité pour détenir ou élever des alpagas. (« Arrêté du 11 août 2006 fixant la liste des espèces, races ou variétés d'animaux domestiques | Legifrance », 2006). Il n'est pas non plus nécessaire d'établir une déclaration auprès de la mairie ou de la préfecture de la commune d'élevage.

- **Identification et enregistrement des animaux**

A l'heure actuelle, il n'existe aucune obligation en matière d'identification des animaux. Cependant la plupart des alpagas d'élevages sont identifiés et enregistrés.

L'identification des alpagas est donc facultative pour le moment mais largement conseillée aux éleveurs, comme gage de leur professionnalisme. Elle s'effectue par puce électronique, le plus souvent au niveau de l'oreille gauche de l'animal. Aucune puce n'est pour l'instant dédiée à l'espèce Alpaga : les puces utilisées sont donc des puces neutres à 15 chiffres sans codification particulières, commençant par 985, ou plus récemment des puces à 15 chiffres commençant par 9xx (où 9 est le code de la faune domestique et « xx » le code laboratoire) (Bernard Giudicelli, 2014a).

En ce qui concerne l'enregistrement des animaux suite à leur identification, là encore il n'y a aucune obligation. Il existe deux registres principaux : le registre national de la Bergerie Nationale de Rambouillet (Azzopardi, 2012) et le registre Européen ou registre L.A.R.E.U. (Lama and Alpacas Registries Europe). S'il est difficile de trouver plus d'informations dans la bibliographie sur le registre de la Bergerie Nationale, toutes les associations d'élevage conseillent par ailleurs l'adhésion au registre L.A.R.E.U. Ce registre est un registre privé ne dépendant d'aucune association ni d'aucun gouvernement, respectant l'accord européen de confidentialité. L'enregistrement est gratuit sur le site officiel du registre pour ceux qui souhaitent déclarer leurs animaux. Ce registre fournit aussi sur commande des puces et des passeports européens pour les animaux (Bernard Giudicelli, 2014b).

➢ Obligations sanitaires

Actuellement, il n'existe aucune obligation sanitaire à l'échelle nationale pour les éleveurs d'alpagas, c'est-à-dire qu'aucune prophylaxie n'est mise en place de façon systématique pour cette espèce (« Recensement des camélidés sur le territoire français - Question écrite n°22203 de Mme Nicole Bonnefoy (Charente - SOC) », 2012). Pourtant, les petits camélidés peuvent être porteurs de maladies réglementées telles que la tuberculose ou la FCO, pour lesquelles il serait très intéressant et important de connaitre le statut des animaux. Cependant, il n'existe pas à l'heure actuelle de test dont la sensibilité est satisfaisante pour la tuberculose. En effet, l'intradermoréaction utilisée chez les bovins produit de nombreux faux-positifs chez les camélidés (Fowler, 2010c). Lors des grands rassemblements d'alpagas, comme les concours, les règles sanitaires sont fixées par les organisateurs qui peuvent exiger une négativité de l'animal pour telle ou telle maladie, malgré des tests peu sensibles et/ou peu spécifiques.

Cette situation préoccupe de plus en plus les associations d'éleveurs et notamment le Syndicat National des Eleveurs de Lamas et Alpagas (S.N.E.L.A), qui fait valoir depuis plusieurs années la nécessité de structurer la filière tant pour des raisons de bien-être animal que pour des raisons sanitaires. En effet, entre huit et dix mille camélidés circulent en France actuellement, or ces animaux peuvent être porteurs au même titre que les ruminants d'un certain nombre de maladies dont certaines sont réglementées, et donc en constituer un nouveau réservoir. A l'occasion d'une question écrite au Ministère de l'Agriculture en février 2012, les éleveurs ont demandé un recensement précis et une identification obligatoire des camélidés circulant sur le territoire. A terme, ils espèrent une évolution de la législation vers des prophylaxies adaptées aux petits camélidés et l'obtention de qualification « indemne » pour les maladies règlementées, tel que cela existe actuellement pour les bovins ou les ovins (« Recensement des camélidés sur le territoire français - Question écrite n°22203 de Mme Nicole Bonnefoy (Charente - SOC) », 2012). Au cours de l'été 2012, un avis favorable a été rendu sur un projet de décret dans ce sens, mais actuellement aucune législation n'est encore en vigueur, ce qui a valu une relance du syndicat en juillet 2013 (« Recensement des camélidés en France - Question orale sans débat n° 0480S de Mme Nicole Bonnefoy (Charente - SOC) », 2013).

Si la législation actuelle encadrant l'élevage, le bien-être et la santé des petits camélidés est peu développée, de nouveaux décrets devraient prochainement voir le jour permettant une évolution progressive vers une meilleure gestion de ce cheptel.

1.1.3 - Modalités d'élevage de l'alpaga

1.1.3.1 - Gestion de l'environnement du cheptel

Pour un élevage optimal, l'alpaga a besoin d'espace et de congénères. En effet, il s'agit d'un animal profondément grégaire, dont le bien-être nécessite la présence d'un groupe structuré dont il fait partie.

La gestion d'un troupeau d'alpagas passe d'abord par un habitat adapté, en extérieur. En effet, l'environnement idéal est un pâturage clos, soit par un grillage à mouton, soit par des clôtures électriques de taille suffisante, l'alpaga présentant de bonnes aptitudes au saut (« Association Française Lamas Alpagas | Gestion de l'habitat », 2014). Cependant, l'alpaga n'est pas un animal de nature fugueuse, si son environnement lui est correctement adapté. Un renforcement des clôtures de l'enclos des mâles peut être judicieux, ainsi que l'isolement spatiale du groupe des femelles, afin d'éviter les conflits et de mieux gérer la reproduction (« Association Alpaga Developpement », 2014).

Selon la qualité et la quantité de fourrages apportées par l'environnement, une surface de 1000m² par animal présent est recommandée. Un abri léger ouvert sur l'extérieur permettant d'abriter tous les membres du groupe lors d'intempéries doit être facilement accessible depuis la pâture. La photographie 5 ci-dessous illustre un exemple d'abri adapté. Si le terrain est suffisamment grand, il est conseillé d'effectuer des rotations de pâture afin de mieux gérer le parasitisme des alpagas. On considère une pâture assainie au bout de 6 semaines de repos (« Association Alpaga Developpement », 2014).

Photographie 5 – Abri ouvert sur l'extérieur installé pour un troupeau d'alpagas et de lamas

(« Association Française Lamas Alpagas | Gestion de l'habitat », 2014)

Afin de mieux gérer les aspects sanitaires et zootechniques de l'élevage (animaux malades, mise-bas etc.), il est aussi conseillé d'aménager de petits enclos indépendants abrités permettant d'isoler les animaux le nécessitant (« Association Française Lamas Alpagas | Gestion de l'habitat », 2014).

Au sein de leur enclos, les alpagas vont ensuite structurer eux-mêmes leur espace en trois aires majeures de tailles différentes : l'aire de pâture (la plus importante en superficie), l'aire de roulage et l'aire de défécation (illustrée par la photographie 6 ci-dessous).

En effet, les alpagas présentent la particularité de faire tous leurs excréments dans un même endroit circonscrit de leur enclos, dans lequel ils ne pâturent pas. Ceci permet une diminution des chances de recontamination par des larves de parasites présentes dans les matières fécales (Ollagnier, 2007).

Photographie 6 – Alpagas réunis sur une aire de défécation

(« South Africa Alpacas Breeding Society », 2009)

1.1.3.2 – L'alimentation de l'alpaga

Si l'alpaga présente certains points communs dans la valorisation des fourrages avec les ruminants, il ne peut être considéré comme tel. Des notions d'anatomie et de physiologie digestive comparée sont nécessaires pour bien comprendre les particularités des petits camélidés.

- **Notions d'anatomie de l'appareil digestif de l'alpaga**

Contrairement aux ruminants, et comme le montre la figure 3 ci-après, l'estomac des camélidés comportent 3 parties anatomiquement distinctes, appelées C1, C2 et C3, pour éviter toute confusion avec les pré-estomacs des ruminants

Le compartiment C1, équivalent du rumen, est un grand réservoir réniforme incurvé sur lui-même, portant en sa face dorsale la grande courbure de l'organe ainsi que le sac caudal et en sa face ventrale la petite courbure et le sac crânial qui reçoit les aliments après leur ingestion. Les deux courbures de C1 se rejoignent au niveau du hile, lui-même bordé par deux sacs glandulaires, le sac antérieur ou gauche et le sac postérieur ou droit, qui communiquent avec C2. Le compartiment C2 est l'équivalent du réseau, il présente un petit volume et est étroitement associé à C1.

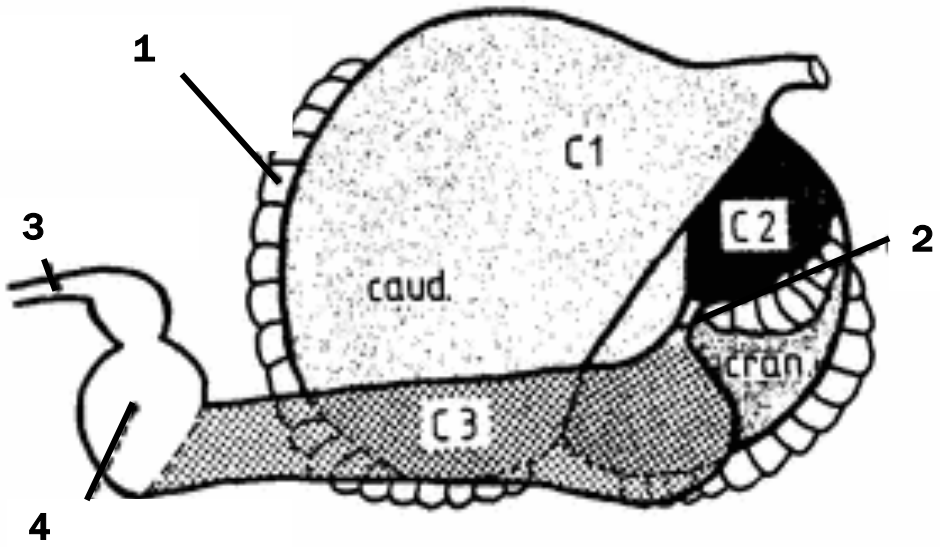
Contrairement aux ruminants, l'épithélium de C1 et C2 ne comporte pas de papilles. Il est tapissé de cellules squameuses kératinisées dorsalement alors que la partie ventrale est lisse à glandes tubulaires.

Le compartiment C3 tubulaire associe deux zones histologiquement très différentes : la partie proximale et la partie tubulaire sont glandulaires alors que la partie terminale de C3 présente une muqueuse plus épaisse et de gros plis, apparentés à ceux que l'on trouve dans la caillette des ruminants. La partie terminale du compartiment C3 est dotée de glande à pepsine et sécrète de l'acide chlorydrique. Elle s'apparente donc à la caillette des ruminants et est le « vrai estomac », lieu de la digestion chimique. Dans certains publications, cette partie terminale de C3 est dénommée C4, elle reste cependant indissociable anatomiquement du compartiment tubulaire (Jouany, 2000).

La figure 3 ci-contre représente les pré-estomacs des camélidés.

Figure 3 – Vue latérale droite de l'ensemble des pré-estomacs et estomac d'un petit camélidé (Heller *et al*., 1984)

Sac glandulaire caudal, (2) Canal reliant C2 et C3, (3) duodénum, (4) Partie terminale de C3 : estomac chimique



➢ Particularités de la digestion chez les camélidés

Sur le plan strict des mécanismes de la digestion, ceux-ci sont très semblables à ceux rencontrés chez les ruminants, mais la physiologie diffère cependant sur quelques grands principes conférant aux petits camélidés la capacité de valoriser des fourrages pauvres en énergie et en azote.

La motricité des pré-estomacs des camélidés est caractéristique du genre et ne ressemble pas à celle des ruminants. En effet, C1 et C2 sont animés de deux types de contractions qui se suivent et qui sont nommées par les lettres A et B. Les contractions A consistent en la contraction de C2 puis de la partie caudale de C1, les contractions B consistent en la succession de la contraction de la partie crâniale de C1, puis de C2 puis de la partie caudale de C1, qui aboutit à l'éructation. Lors des phases actives de rumination, une centaine de phase A ou B peuvent être dénombrées par heure. D'une manière générale, il a été montré que la motricité des pré-estomacs des camélidés était plus importante que celle des ruminants.

Du fait de cette motricité, le temps de séjour de la phase liquide dans le compartiment C1-C2 est relativement plus faible que chez les ruminants. Cependant, le temps de séjour moyen des particules solides déterminé par leur taille et leur densité est comparativement plus long, ce qui s'explique en partie par la faible activité de rumination des camélidés pendant la journée (Van Saun, 2006),(Jouany, 2000).

La population microbienne rencontrée dans les pré-estomacs des camélidés diffèrent peu de celles des ruminants. Cependant, l'activité cellulolytique globale est plus élevée chez les camélidés, tant sur la qualité de l'hydrolyse que sur sa vitesse de réalisation. Ainsi, l'association d'une activité cellulolytique plus élevée et d'un temps de séjour des particules solides dans C1-C2 plus long que chez les ruminants, confère à l'appareil digestif des camélidés une capacité plus importante à valoriser des fourrages médiocres. De plus, il présente aussi une forte capacité de valorisation des rations pauvres en azote, en comparaison de l'appareil digestif d'un ruminant. En effet, jusque 90% de l'azote uréique sanguin peut-être recyclé par C1 et par la salive chez les camélidés ce qui, associé à la faible filtration glomérulaire de l'urée, favorise la rétention azotée chez ces espèces (Jouany, 2000).

Ces particularités digestives sont une adaptation au mode de vie de ces animaux sur les plateaux andins, sur lesquels lors de la saison sèche, les fourrages se font rares et de mauvaise qualité.

➢ Les besoins alimentaires de l'alpaga (Van Saun, 2006)

L'alimentation de l'alpaga se compose majoritairement de fourrages verts ou secs (foin par exemple), et peut être complétée par des concentrés énergétiques ou protéiques sous formes de granulés ou de grains, en fonction de la qualité et du type de fourrages. Ceux-ci doivent apporter les éléments nécessaires pour couvrir les besoins physiologiques des animaux.

A l'état de maintenance (c'est-à-dire pour un alpaga adulte de plus de 3 ans, sans activité particulière), on considère que la capacité d'ingestion de matière sèche se situe entre 1,0 et 1,5% de poids vif, c'est-à-dire 30% de moins que ce qui est observé chez les ruminants.

Besoins en eau :

L'eau est l'élément le plus important de la ration et est trop souvent négligée. Elle joue un rôle important dans la régulation de la température et participe à l'établissement d'un milieu aqueux, siège de toutes les réactions métaboliques. La capacité d'un animal à ingérer plus ou moins de matière sèche dépend largement de la disponibilité en eau. Les besoins en eau dépendent du poids de l'animal, du stade physiologique, de son niveau d'activité, de la ration consommée et de son environnement. Le besoin en eau est estimé à 1mL/Kcal d'énergie métabolisable (EM), soit 122 mL/kg $PV^{0,75}$. Cela représente environ 2 à 3 fois la matière sèche ingéré ou entre 3% (adulte en maintenance) et 8% du poids vif (croissance, lactation…). En période de chaleurs ou de sécheresse importante, ce besoin peut aller jusque 10 à 15% du poids vif.

Besoins énergétiques :

Selon les études, les besoins énergétiques d'entretien sont estimés entre 61,2 et 84,5 Kcal/kg $PV^{0,75}$ d'énergie métabolisable avec une valeur moyenne admise de 72,85 Kcal/kg $PV^{0,75}$ en attendant l'établissement de nouvelles données. Cependant l'alpaga étant souvent un animal en pâture, les besoins énergétiques d'entretien doivent être adaptés à la dépense énergétique réalisée pour la recherche de nourriture et à la nature du terrain de pâturage (terrain escarpé ou non).

En ce qui concerne les besoins énergétiques lors de la croissance, les courbes et modalités de croissance du jeune sont manquantes chez l'alpaga et peu documentées chez le lama. Cependant, les données de l'alpaga ont été extrapolées à partir de celles du lama et le gain moyen quotidien est admis entre 30 et 180g PV/j. En extrapolant un modèle connu chez la chèvre dont le gain moyen quotidien en croissance est comparable, le besoin en énergie pour la croissance est estimé à 7,25 Kcal EM / g de gain. Cette valeur doit être ajoutée à celle d'entretien.

Lors de la gestation, les besoins énergétiques augmentent pour soutenir le développement du fœtus, du placenta, de l'utérus et de la glande mammaire. L'augmentation des besoins intervient comme chez de nombreuses autres espèces dans les trois derniers mois de gestation, le fœtus ayant de plus une croissance exponentielle durant ces mois. Tous les modèles énergétiques en gestation sont extrapolés de données connues chez le mouton. Le modèle tenant compte à la fois des éléments cités précédemment et à la fois des variations de la taille du fœtus au cours du temps est le plus réaliste et estime que les besoins énergétiques sont multipliés par 1,27 au 8^{e} mois, 1,55 au 9^{e} mois et 1,92 au 10^{e} mois, valeurs en accord avec les données connues dans les autres espèces d'élevage. Cependant, les données sont des données extrapolées et les données réalisées à partir d'alpaga sont manquantes.

La composition du lait des petits camélidés a été déterminée chez le lama et l'alpaga et est différente de celle des ruminants d'élevage : le lait est plus riche en lactose mais moins riche en matière grasse. A partir de ces considérations, la dépense énergétique pour la production de lait est estimée à 946,2 Kcal EM/kg lait de produit, soit 710 à 2082 Kcal EM/j si on considère une production laitière journalière entre 0,75 et 2,5 kg.

Enfin, la production des fibres est aussi une source de dépense énergétique. En effet, plusieurs études ont montré qu'un déficit énergétique avéré dans une ration alimentaire ralentit la croissance des fibres. Aucune recommandation n'est établie chez l'alpaga et le lama, et celles du mouton ne sont pas extrapolables, du fait de la croissance différentielle spécifique de la fibre des petits camélidés. Cependant, les recommandations utilisées chez les moutons Angora pour la production de Mohair peuvent être utilisées comme base de réflexion. Chez ces animaux, la dépense énergétique quotidienne pour la production de laine est estimée à 30 Kcal EM par jour et par kg de laine produite annuellement.

Besoins protéiques :

Chez les ruminants, comme chez les petits camélidés, les besoins protéiques sont plus difficiles à estimer que chez les monogastriques. En effet, ils doivent tenir compte à la fois des besoins de la flore microbienne et de ceux de l'animal. Les populations microbiennes peuvent utiliser des protéines alimentaires hautement digestibles ainsi que de l'azote non protéique. Les besoins journaliers en acides aminés de l'animal sont quant à eux couverts par les protéines d'origine microbienne et les protéines d'origine alimentaire faiblement dégradables. Cependant, aucune donnée concernant les besoins protéiques tenant compte de ces fractions azotées n'est disponible chez les petits camélidés.

Les besoins protéiques d'entretien ont cependant été approchés par une étude les estimant à partir des pertes d'azote endogène par les urines, les selles et les peaux mortes. Les besoins d'entretien sont estimés à 2,38 g de protéines digestibles (PD) / kg $PV^{0,75}$, soit 3,5 g de protéines brutes (PB)/kg $PV^{0,75}$, ce qui est plus faible que les besoins connus chez les petits ruminants d'élevage et les vaches laitières. Un rapport protido-calorique (RPC) de 48g PB/Mcal EM est admis comme valeur de base pour les besoins d'entretien.

En croissance, les besoins protéiques dépendent de la composition du « gain », c'est-à-dire du type de tissu en cours de dépôt et de sa quantité. Il est admis que 0,284 g de PB sont nécessaires pour déposer 1g de « gain » et que le rapport protido-calorique pour la totalité des besoins de la croissance (entretien + croissance) est de 45 g PB/Mcal EM.

Pendant la gestation, du fait de la croissance exponentielle du fœtus pendant les trois derniers mois, l'augmentation des besoins protéiques est significative principalement durant cette période. Une étude suggère une augmentation de 68% des besoins protéiques par rapport aux besoins d'entretien, soit un besoin protéique total de 5,88 g PB/ kg $PV^{0,75}$, ce qui correspond à un RPC de 42,4g PB/Mcal EM. Cette valeur est inférieure au RPC de référence et pourrait avoir un impact sur le manque en acides aminés indispensables au développement et au métabolisme fœtal. Un autre modèle existe, tient compte de la croissance exponentielle du fœtus durant les trois derniers mois de gestation et maintient le RPC à 48g PB/Mcal EM. Dans ce modèle, les apports protéiques par mois de gestation sont de 76, 92 et 114% des besoins d'entretien respectivement au 8^e, 9^e et 10^e mois de gestation.

Les besoins protéiques en lactation sont à corréler au niveau de production laitière et au taux protéique du lait. Une étude réalisée sur 83 lamas estime le taux protéique moyen du lait à 34g/kg mais des variations entre fermes suggèrent une influence nutritionnelle forte. Cette valeur est cependant utilisée comme base de calcul pour les besoins protéiques en lactation, qui sont estimés à 60,6 g PB/kg lait.

Ainsi, des recommandations en matière de nutrition des petits camélidés existent mais elles sont basées sur des extrapolations de données existantes chez la chèvre et le mouton et de nombreuses données sont manquantes chez l'alpaga pour conclure à la validité des estimations vues précédemment.

1.1.3.3 – Gestion de la reproduction dans un cheptel d'alpaga

Pour bien comprendre les enjeux et les modalités de la reproduction chez l'alpaga, des connaissances sur les particularités anatomo-physiologiques de l'appareil reproducteur sont nécessaires.

- **Particularités de l'activité ovarienne chez la femelle alpaga**

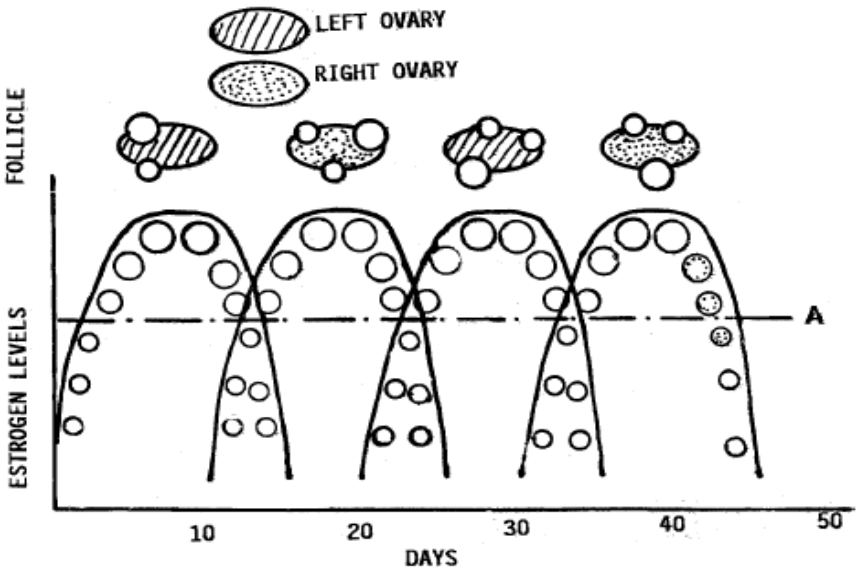
Les camélidés domestiques sont le seul groupe de grandes espèces domestiques à ovulation provoquée. En effet, chez l'alpaga, l'ovulation est provoquée par l'accouplement. De ce fait, chez cette espèce, on ne peut à proprement parler de cycle œstral, puisqu'il n'existe pas un type de comportement régulier comme chez les espèces à ovulation spontanée. Chez l'alpaga, on parlera alors de réceptivité de la femelle à l'accouplement ou de non réceptivité (Adams, 2007).

La réceptivité de la femelle est fonction du niveau systémique d'œstrogènes. Il n'y a pas de période d'œstrus chez les petits camélidés. En l'absence d'accouplement récent ou de gestation, les femelles alpagas présentent la particularité d'avoir une réceptivité quasi-constante. Cette particularité tient à une activité ovarienne originale, très différente de celle rencontrée chez les animaux de production plus classiques.

Chez la femelle alpaga, les deux ovaires travaillent de manière alternée : un follicule croît puis s'atrésie en 10 à 18j, ce qui constitue une vague folliculaire.

La figure 4, ci-après schématise les « cycles » ovariens chez une femelle non sexuellement stimulée, au cours desquels le taux d'œstrogènes ne diminue jamais assez pour passer sous le seuil de non réceptivité matérialisé par la ligne A.

Figure 4 – Diagramme représentant les vagues folliculaire chez une femelle alpaga en l'absence de stimulation sexuelle (Fowler, 2010d)



Pour qu'un follicule puisse ovuler, sa taille doit être supérieure à 7mm lors de l'accouplement. Si l'accouplement a lieu alors que le plus gros follicule mesure moins de 7mm, il ne déclenche pas l'ovulation. Si l'accouplement a lieu pendant la phase de régression du follicule dominant, celui-ci va favoriser sa lutéinisation. Le corps jaune ainsi produit va perdurer et atteindre sa taille maximale en 7 à 8 jours jusqu'à lutéolyse, induite par la sécrétion pulsatile de prostaglandines 10 jours après l'accouplement. Les vagues folliculaires reprennent alors dès le début de la régression du corps jaune et la réceptivité de la femelle se manifeste dès que le taux circulant d'œstrogènes est suffisant (Fowler, 2010d).

- **Comportement sexuel et gestion de l'accouplement en élevage**

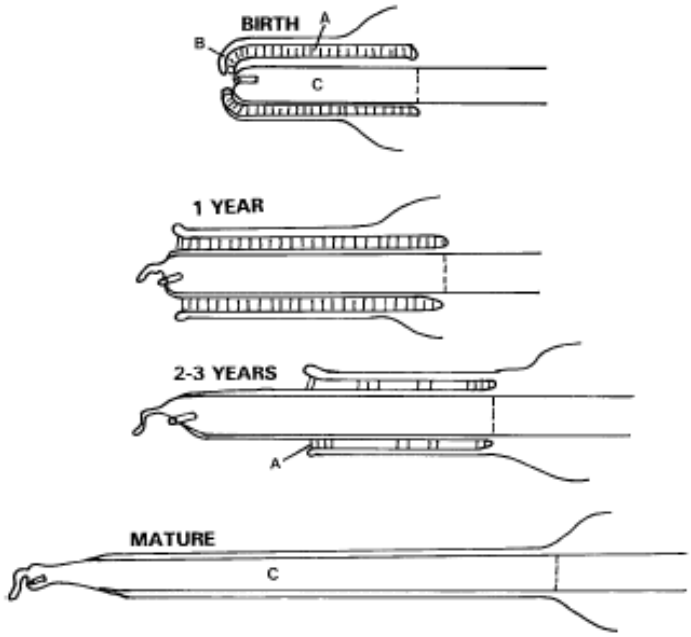
Du fait des particularités de la physiologie de la femelle alpaga, la reproduction de l'alpaga n'est pas saisonnière. Des petits, appelés crias, peuvent naître toute l'année en élevage. Dans les conditions naturelles, sur les plateaux Andins, les alpagas présentent cependant une reproduction apparemment saisonnière, qui permet les naissances au moment d'abondance fourragère, pendant la saison humide.

Bien que la folliculogénèse soit précoce entre le 5ème et le 10éme mois chez la femelle alpaga, les follicules sont de petites tailles (<7mm) et ne sont pas capables d'ovuler. La réceptivité sexuelle n'intervient que lorsque le développement staturo-pondéral de la femelle est suffisant, autour de 60% de son poids adulte, ce qui intervient vers l'âge de 12-13 mois si les conditions alimentaires sont favorables (Fowler, 2010d). D'une manière générale, les femelles sont mises à la reproduction en élevage entre 12 et 18 mois (Adams, 2007).

Concernant les mâles, deux éléments conditionnent leur capacité à reproduire. D'une part, à la naissance et jusqu'à la fin de la puberté, il existe des adhérences entre le prépuce et le gland qui empêchent l'extravasion de ce dernier lors de l'érection. Ces adhérences s'effacent sous l'imprégnation de la testostérone entre un an et demi pour les plus précoces et 3 ans, comme le montre la figure 5 ci-après (Brown, 2000; Fowler, 2010d).D'autre part, certains mâles, dont les adhérences sont libérées tôt sont pourtant inaptes à la reproduction du fait de leur faible libido et de leur manque de puissance, qui les empêche de coucher la femelle au sol pour l'accouplement. D'une manière générale, les mâles reproducteurs débutent leur carrière autour de 3 ans (Fowler, 2010d).

Figure 5 – Diagramme d'évolution des adhérences préputiales chez les camélidés de la naissance à la maturité sexuelle (Fowler, 2010d)

(A) Adhérences, (B) Prépuce, (C) Pénis



Lors de la mise à la reproduction, le mâle poursuit la femelle choisie. Si celle-ci n'est pas réceptive, elle crache sur le mâle pour le rejeter et le fuit (Adams, 2007). Si elle est réceptive, soit elle se couche immédiatement en décubitus sternal, soit elle fuit à chaque approche du mâle un peu plus loin jusqu'à ce que celui-ci parvienne à la coucher. Pour parvenir à mettre la femelle en décubitus sternal, le mâle peut aller jusqu'à se cabrer afin de prendre appui sur son train arrière jusqu'à le faire basculer. La chasse peut durer ainsi plusieurs minutes jusqu'à ce que la femelle cède (Fowler, 2010d).

La photographie 7 ci-dessous illustre la position classique de l'accouplement chez les alpagas.

Photographie 7 – Position classique d'accouplement entre deux alpagas (Fowler, 2010d)

Lors de l'accouplement, il y a pénétration intra-utérine du pénis grâce à une particularité anatomique propre aux camélidés. En effet, le pénis de l'alpaga est doté d'une extrémité courbe et cartilagineuse permettant le franchissement du col strié de l'utérus (Brown, 2000; Fowler, 2010d).

Photographie 8 - Partie distale d'un gland de camélidé (Fowler, 2010d)

(A) Ostium urétral, (B) Extrémité cartilagineuse du pénis

L'accouplement est long, d'une durée approximative de 15 minutes, pendant lesquelles le mâle alpaga vocalise. L'éjaculation est pulsatile et s'étale dans le temps sur la quasi-totalité de l'accouplement. Des changements d'orientation du mâle peuvent être parfois observés correspondant probablement à un changement de corne utérine. L'ovulation de la femelle étant provoquée, elle a lieu environ 24h après l'accouplement. En réponse adaptative à ce mécanisme, la semence du mâle est de nature gélifiée, ce qui permet la préservation des spermatozoïdes dans l'utérus jusqu'à libération de l'ovule concomitante à une liquéfaction de la semence du mâle. En été, la liquéfaction de celle-ci peut être plus précoce, expliquant ainsi des baisses de fertilité les mois d'été.

Le plus souvent, deux accouplements n'ont pas lieu dans la même journée avec la même femelle. Mais le mâle peut saillir jusque maximum 18 femelles dans la même journée en début de « saison », avec une moyenne de 5 à 6 femelles par jour. Cependant l'augmentation du nombre de femelles saillies dans la même journée diminue la fertilité du mâle (Fowler, 2010d).

Lorsque la femelle a ovulé après l'accouplement, elle devient non réceptive et chasse le plus souvent le mâle dès le lendemain. Cependant certaines femelles peuvent rester réceptives 3-4 jours après l'accouplement malgré l'ovulation, si le corps jaune produit peu de progestérone. Les saillies suivant l'ovulation peuvent alors être défavorable à la gestation du fait de la pénétration intra-utérine (Adams, 2007).

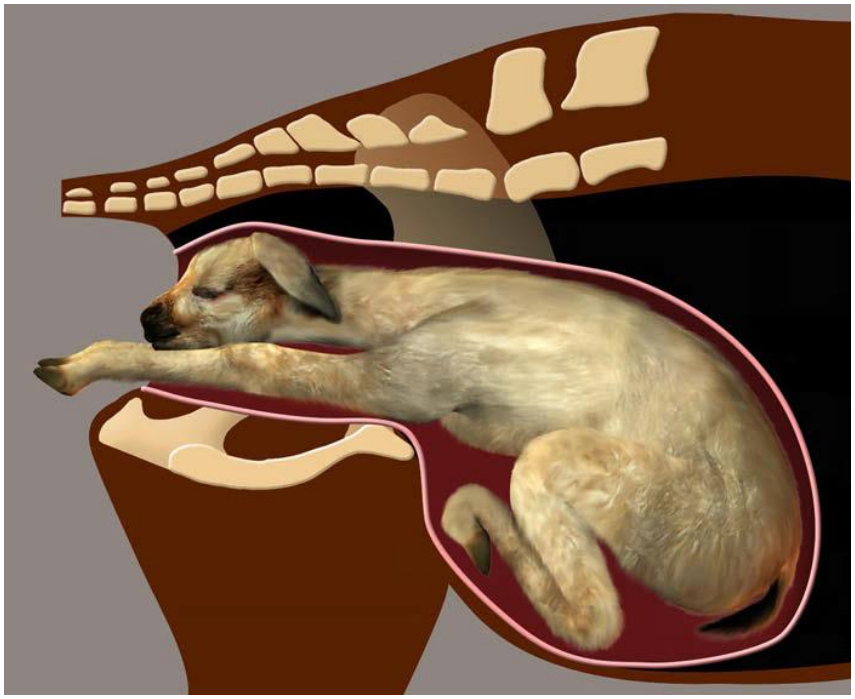
En élevage, on retrouve deux techniques principales de reproduction : la monte en liberté, qui consiste à mettre un reproducteur dans un lot de femelles à saillir et la monte individuelle ou en main, qui consiste à présenter un reproducteur à une femelle sélectionnée dans un enclos ou en main. La seconde méthode demande un suivi très régulier des femelles mais permet de réaliser des croisements intéressants du point de vue génétique et de détecter rapidement les problèmes de reproduction (Adams, 2007).

➢ Gestation et gestion post-partum en élevage

La gestation de la femelle alpaga dure entre 335 et 360 jours, en moyenne 345 jours. 95% des gestations s'effectuent dans la corne gauche chez les alpagas et chez les lamas (Fowler, 2010d). Durant celle-ci, une attention toute particulière doit être portée au bien-être et à l'alimentation de la mère.

La mise-bas est la plupart du temps rapide, entre 6 et 47 minutes avec une moyenne de 10 à 15 minutes, le cria étant présenté dans la majorité des cas en position dorso-sacrale antérieur, comme le montre la figure 6 ci-après. L'expulsion est généralement facile, les dystocies étant rares et estimées par des études Sud-Américaines à 1,6% des naissances d'alpagas, dont 25% de mères primipares. Un cria unique est généralement mis au monde, la gémellité étant très rare chez les petits camélidés (Anderson, 2009).

Figure 6 - Position normale du cria au moment de la parturition (Whitehead, 2009)



La majorité des naissances ont lieu en début de journée, entre 6h et 13h, ce qui favorise un réchauffement rapide du nouveau-né, la mère alpaga ne léchant jamais son petit. De plus, une membrane épidermale propre aux camélidés, dont la fonction n'est pas connue recouvre le cria à la naissance, l'isolant du vent (Whitehead, 2009). La photographie 9 ci-après illustre bien l'existence de cette membrane, isolée ici manuellement.

Photographie 9 – Membrane épidermale désolidarisée de ses attaches faciales sur un fœtus de lama en fin de gestation (Smith *et al*., 1994)

Jusqu'à la première tétée, la mère paraît très peu intéressée par son petit mais reste présente à ses côtés jusqu'à ce qu'il soit ambulatoire et vocalise. Le cria se met debout dès 30 minutes à 1h après sa naissance. Par la suite, les tétées sont fréquentes (2 à 3 fois par heures) mais de courtes durées (autour d'une minute) (Whitehead, 2009).

La délivrance est rapide après la mise-bas, généralement dans l'heure qui suit mais peut s'effectuer jusque 4 à 6 heures plus tard. Les problèmes de non-délivrances sont rares chez les alpagas, mais peuvent être le cas échéant facilement traités par des injections d'ocytocine (Fowler, 2010d).

Afin de maintenir un taux annuel de mise-bas en élevage, les femelles doivent être de nouveau gestantes environ 20 jours après le part. Dès 4 jours après la mise-bas, la femelle présente de nouveau une réceptivité apparente mais l'involution utérine et la croissance folliculaire ne sont pas suffisantes pour permettre l'ovulation et une nouvelle gestation. Dans la pratique, les femelles alpagas suitées sont remises à la reproduction entre 12 et 20 jours après le part (Adams, 2007). Le cria est généralement sevré autour de l'âge de 6 mois.

1.2 – Spécificités des examens cliniques et paracliniques chez l'alpaga

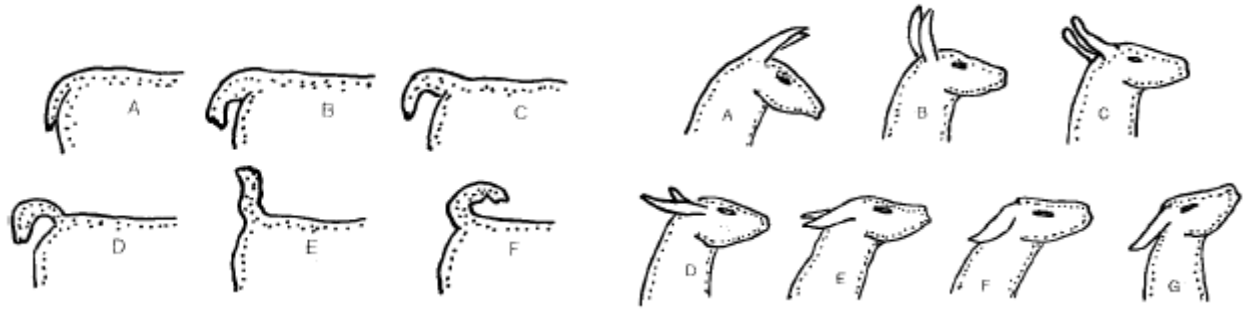
1.2.1 - Abord, contention et examen clinique de l'animal

1.2.1.1 – Abord d'un alpaga en liberté

L'abord de l'alpaga au sein de son troupeau nécessite des connaissances en matière de signaux de bien-être ou d'agression que l'animal peut présenter au manipulateur. La position des oreilles et de la queue sont les meilleurs indicateurs quant au comportement de l'animal à un moment donné, comme le montre les figures 7 et 8, ci-dessous (Fowler, 2010e).

Figures 7 et 8 - Indications données par les diverses positions des oreilles et de la queue chez le lama (Fowler, 2010e)

Queue : (A) normal, (B, C) alerte, (D, E) degré différent d'agressivité, (F) soumission ; Oreilles : (A) Alerte, (B) normal, (C) position au repos, (D) au repos en écoutant derrière (E à G) degrés différents d'agressivité



L'alpaga étant un animal profondément grégaire, la conduite en groupe est assez aisée et peut être réalisée simplement à l'aide de la voix et des bras, plus ou moins prolongés par un bâton de rassemblement. Si les manipulateurs sont plusieurs, le troupeau peut aussi être mené à l'aide de cordes. La présence d'un enclos de petite taille dans lequel les animaux ont été habitués à circuler ou à prendre des repas facilite le rassemblement du groupe, ce qui permet par la suite d'aborder individuellement les animaux dans les meilleures conditions.

Le groupe ainsi rassemblé, une attention toute particulière doit être portée aux signaux envoyés par l'alpaga que l'on souhaite aborder. Si l'alpaga est bien domestiqué et dressé, l'abord se fait par sa gauche, en passant le bras droit autour de son cou afin de lui mettre un licol qui permettra de le guider aisément, si il y est habitué (Soly, 2005).

1.2.1.2 - Contention physique de l'alpaga

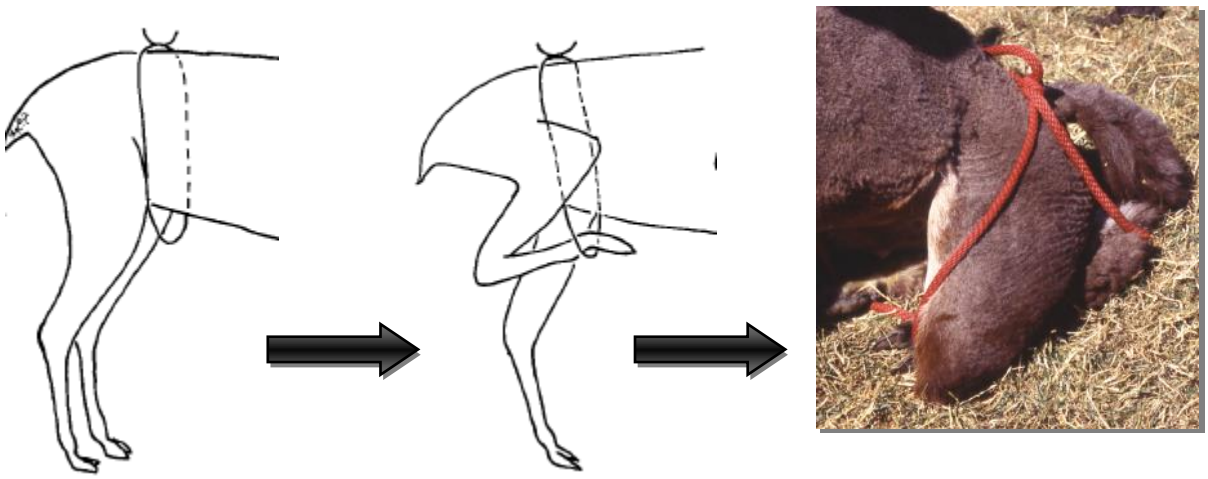
Une étude menée en Nouvelle Zélande sur des mâles alpagas en 1995 a montré que la présence de congénères connus de l'animal lors de manipulation individuelle limitait l'accélération du rythme cardiaque par rapport à une isolation totale de l'animal du groupe (Pollard et Littlejohn, 1995). Afin de diminuer le stress engendré par la contrainte humaine, la présence de congénères est donc conseillée lors d'examen clinique et de prélèvement sur un alpaga. En effet, si l'alpaga est moins lourd que le lama, il peut présenter des réactions réflexes vives et brutales lorsqu'il est contraint, se manifestant principalement par un redressement puissant de l'encolure et de la tête ou des sauts, qui peuvent blesser le manipulateur (fractures du nez, chocs labiaux etc..) (Fowler, 2010e).

Au contraire de la contention du lama, qui peut nécessiter l'utilisation d'un travail, la contention physique de l'alpaga peut se faire manuellement. Pour ce faire, diverses méthodes sont utilisées, dont les deux principales sont illustrées par les photographies 10 et 11, ci-dessous.

Photographies 10 et 11 – Méthodes de contention individuelle de l'alpaga (Fowler, 2010e)

L'usage de cordes peut être nécessaire lorsque l'animal doit être maintenu en décubitus sternal. Pour cela, la corde est nouée assez lâche autour de l'abdomen de l'alpaga, puis les membres postérieurs sont passé un à un à l'intérieur de celle-ci, de manière à forcer l'affaissement du train arrière. La méthode est illustrée par la figure 9 ci-après.

Figure 9 – Illustration de la technique de couchage de l'alpaga (Fowler, 2010e)



Lors d'intervention du vétérinaire, la méthode de contention choisie doit être la plus adaptée à la fois au niveau de stress de l'animal et au type de manipulation à réaliser.

1.2.1.3 - Modalités de l'examen clinique et constantes physiologiques

L'examen clinique de l'animal débute à distance. Un alpaga en bonne santé est doté d'une grande vivacité, avec l'encolure bien redressée, et les oreilles souvent pointées vers l'avant à l'arrivée d'un inconnu.

Le déroulement de l'examen clinique est semblable à celui connu chez tous les autres animaux domestiques ou de rente. Ne seront énoncées ici que les particularités propres à l'alpaga.

➢ Température corporelle

Selon l'environnement dans lequel il évolue, la température corporelle d'un alpaga peut s'inscrire dans un intervalle large. En effet, si celle-ci se situe généralement entre 37,5°C et 38,9°C, certains alpagas peuvent présenter physiologiquement une température corporelle jusqu'à 40°C en plein été (Fowler, 2010f). L'alpaga est en effet un animal très bien adapté aux climats froids et secs. Capable de maintenir sa température corporelle dans des conditions extrêmes, il tolère cependant beaucoup moins bien les climats chauds et humides. De ce fait, l'alpaga est un animal largement prédisposé aux stress thermiques, qui détériorent à la fois sa santé, mais aussi sa productivité et sa fertilité, tant chez le mâle que chez la femelle (Jones et Boileau, 2009). La tonte de l'animal qu'elle soit totale ou partielle (pour des raisons de concours par exemple) favorise la thermorégulation pendant les périodes de chaleurs et s'impose comme une bonne mesure de prévention des stress thermiques (Heath *et al*., 2001).

La température est donc une étape importante de l'examen clinique.

- **Examen de l'appareil cardio-vasculaire et respiratoire** (Fowler, 2010f)

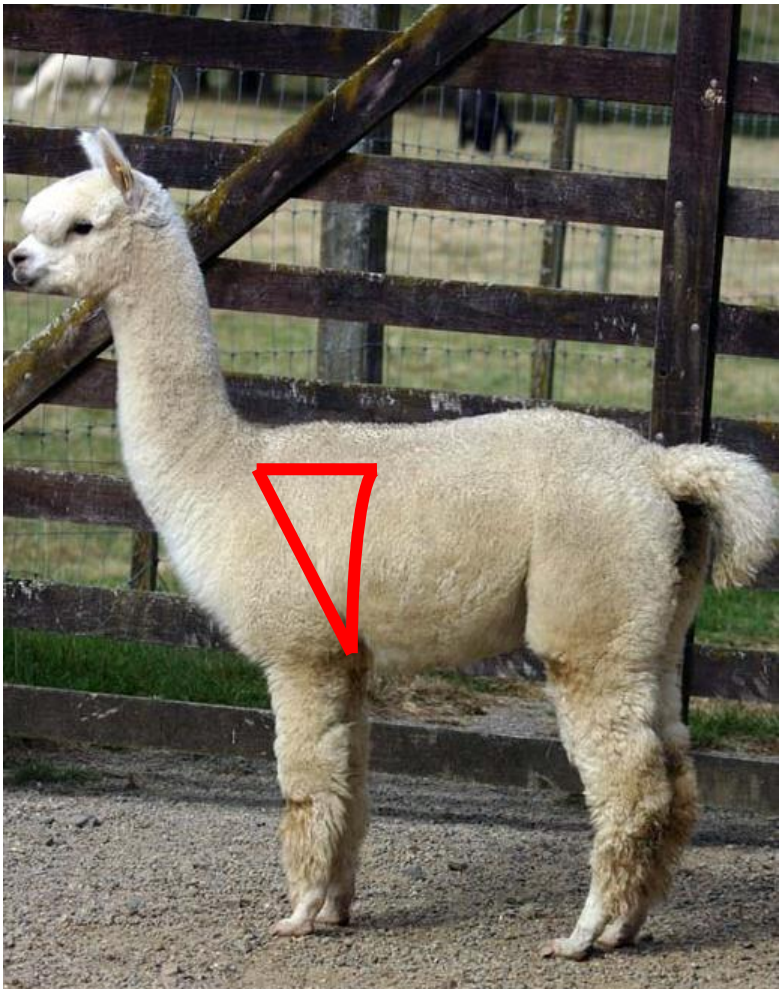
Chez les alpagas, les muqueuses gingivales ne sont pas pigmentées. Elles permettent le plus souvent de déterminer un temps de recoloration capillaire. Le pouls quant à lui n'est pas évalué chez les alpagas, aucune artère n'étant facilement accessible.

Une bonne auscultation cardiaque est possible chez l'alpaga et est permise par une zone axillaire glabre. Le rythme cardiaque normal se situe entre 60 et 90 battements par minute. Une arythmie sinusale, sans conséquence pathologique, est fréquemment retrouvée.

L'aire d'auscultation respiratoire illustrée par la figure 10 est limitée cranialement par le bord caudal du triceps, dorsalement par une ligne de 20 à 25 cm parcourant le sommet des côtes, caudalement et ventralement par une ligne oblique allant de la limite dorsale à l'olécrane. Le diaphragme est caudal à cette zone d'auscultation, mais les bruits pulmonaires sont inaudibles dans la partie caudale du thorax. Les bruits respiratoires des petits camélidés sont très discrets et difficiles à entendre, mais ceux-ci augmentent avec l'excitation et la fréquence respiratoire. Cette dernière se situe normalement entre 10 et 30 mouvements par minute et s'évalue plus simplement à l'auscultation de la trachée à l'entrée du thorax qu'au cours de l'auscultation pulmonaire.

Figure 10 – Illustration de la zone d'auscultation du champ pulmonaire gauche d'un alpaga

Photographie : (AFLA, 2014), Contours rouges : zone d'auscultation du champ pulmonaire gauche



➢ **Examen de l'appareil digestif** (Fowler, 2010f)

L'examen de la cavité buccale est difficile chez les camélidés car les possibilités d'ouverture sont très limitées. Seules les dents visibles sans ouverture peuvent être évaluées.

L'essentiel de l'auscultation digestive se limite à celle du compartiment C1 de l'estomac, dans lequel se déroule la majorité du processus fermentaire de la digestion des camélidés. Ce compartiment C1 occupe la totalité du côté gauche de l'abdomen. L'auscultation digestive se réalise donc du côté gauche, et nécessite de bien écarter les fibres de l'alpaga afin de poser la capsule du stéthoscope au niveau du creux du flanc, comme on le ferait pour écouter un rumen de bovin. La mobilité normale de C1 est d'environ 3 à 4 contractions par minute, cependant cette norme peut être revue à la hausse juste après un repas.

1.2.2 - Dominantes pathologiques recherchées chez l'alpaga

Cette partie ne cherche pas à dresser une liste exhaustive des maladies rencontrées chez l'alpaga, mais fournira une aide au diagnostic face à un animal malade en recensant les principales affections de l'alpaga

Par ailleurs, toutes les études réalisées sur des petits camélidés et les cas cliniques rapportés provenant majoritairement des Etats-Unis, de l'Amérique du Sud et de l'Afrique, peu d'informations fiables sont disponibles quant à la prévalence des maladies décrites en France.

1.2.2.1 – Réceptivité et sensibilité aux grandes maladies infectieuses

- **Maladies virales** (Fowler, 2010c)**, (**(Kapil *et al*., 2009)

A l'heure actuelle, la réceptivité et la sensibilité des petits camélidés aux maladies virales est largement méconnue. Ceci peut être dû :

- d'une part au fait qu'aucun cas clinique n'ait été rapporté à ce jour, soit parce que les animaux n'ont jamais été exposé à l'agent pathogène (expérimentalement ou naturellement), soit parce qu'ils ne sont pas sensibles à cette affection,
- d'autre part au fait que l'infection n'ait pas pu être mise en évidence par les tests sérologiques et virologiques classiques.

Le tableau ci-dessous répertorie les infections virales majeures connues chez les petits camélidés pour lesquelles des preuves de séroconversion ont été publiées. Cependant parmi-celles-ci, aucune description de cas clinique n'a été réalisée pour certaines affections.

Tableau 1 – Quelques viroses connues chez les petits camélidés, dont la réponse sérologique a été mise en évidence

Maladie	***Cas clinique rapporté***
Rage	Oui
Ecthyma Contagieux	Oui
Stomatite vésiculeuse	Oui
IBR (Rhinotrachéite infectieuse bovine)	Non
Rhinopneumonie équine	Oui
Fièvre aphteuse	Oui
F.C.O (Fièvre Catarrhale ovine)	Non
B.V.D (Diarrhée bovine virale)	Oui
Grippe à Influenza A	Non
Maladie de Borna	Oui
Coronavirose	Oui
Pneumonie à Adénovirus	Oui

Il est bon de rappeler que les petits camélidés n'étant pas des ruminants, ils ne présentent pas nécessairement la même réceptivité et sensibilité aux agents pathogènes qu'ils peuvent rencontrer. Par exemple, les petits camélidés sont moins réceptifs et moins sensibles que les ruminants à la fièvre aphteuse (Fowler, 2010c). L'infection par les virus de la B.V.D et la F.C.O posent quant à elle la question du risque pour les troupeaux du fait de la proximité de certains élevages de camélidés avec des élevages bovins ou ovins.

Ainsi, les vétérinaires exerçant auprès de petits camélidés doivent avoir à l'esprit les maladies virales connues chez les ruminants et chez les chevaux, qui peuvent être encore à l'heure actuelle non rapportées chez les petits camélidés et qui ne peuvent pas par conséquent être exclues du diagnostic différentiel des différentes affections rencontrées.

➢ Maladies bactériennes (Fowler, 2010c)

Tout comme pour les maladies virales, peu de cas cliniques documentent chaque entité, mais de nombreuses maladies dont l'agent pathogène est bactérien sont répertoriées chez les petits camélidés. Ce sont aussi bien des maladies réglementées telle que le charbon bactérien (anthrax), la brucellose (les petits camélidés étant sensibles à *B. melitensis* de type 1) que des maladies systémiques comme la listériose, la leptospirose etc. Les maladies impliquant des bactéries du genre *Clostridium* (botulisme, tétanos, entérotoxémie) sont mineures chez l'alpaga. Aucun cas de brucellose n'a pour le moment été rapporté. Certaines sources évoquent l'existence de cas cliniques d'entérotoxémie et de tétanos chaque année sur les petits camélidés (B. Giudicelli, 2014), mais aucune publication ni aucun chiffre ne confirme ces dires.

➢ Mycoses (Fowler, 2010c)

Les cas d'affections causées par des champignons sont rares chez les petits camélidés. Parmi les quatre plus connues, on retrouve la teigne (principalement à *T.mentagrophytes* ou à *T.verrucosum*) pour laquelle plusieurs cas cliniques sont décrits chez les lamas et chez les alpagas. Comme pour les autres maladies, aucun de ces cas n'a été publié en France. La candidose et l'aspergillose sont aussi connues chez les petits camélidés, même si un seul cas a pour l'instant été répertorié pour chaque maladie.

Enfin les petits camélidés et principalement le lama sont sensibles à la coccidioidomycose. Elle est due à un champignon dimorphique appelée *Coccidioides immitis*, principalement connue pour les infections fongiques respiratoires dont il est responsable chez l'homme et chez les animaux sensibles. La coccidioidomycose peut se manifester sous deux formes : une forme disséminée, dans laquelle chaque organe touché (poumon, cœur, rein, foie principalement) peut être le siège de formation de granulomes et une forme locale cutanée. Ce champignon se retrouve dans les sols de certaines régions du Sud-Ouest des Etats Unis et du Nord-Ouest du Mexique : aucun cas n'a été décrit en France pour le moment.

➢ Parasitoses externes et internes

Comme les ruminants d'élevage, les petits camélidés sont touchés par les parasitoses externes les plus classiques : poux piqueurs (*Damalinia breviceps*) et suceurs (*Microthoracius minor)* spécifiques d'hôte, mouches, tiques, moustiques, tabanidés communs aux autres espèces domestiques et gales principalement. Aucun cas d'infestation par les puces n'est décrit dans la littérature mais des cas ont été rapportés oralement par des éleveurs (Fowler, 2010g). Concernant les gales, la gale sarcoptique est la plus courante chez l'alpaga et est causée comme chez les espèces domestiques par *Sarcoptès scabei*. Des cas de gales sarcoptiques sont décrits en France. Les gales psoroptiques et chorioptiques sont peu décrites aux Etats-Unis et aucun cas n'est publié en France (Fowler, 2010g).

De même, les parasitoses digestives des petits camélidés sont assez semblables à celles connues chez les ruminants d'élevage. Elles comptent des protozooses, comme la coccidiose, la cryptosporidiose ou la giardiose. Les parasites responsables de coccidioses chez les petits camélidés sont différents de ceux isolés chez les bovins et ont été isolés aux Etats Unis : *Eimeria alpacae, E.lamae, E. macusaniensis, E.punoensis, E.peruviana*. Certains d'entre eux ont été retrouvés à la fois chez le lama et l'alpaga. Parmi les trématodoses, la fasciolose est également décrite chez les petits camélidés. Cependant, aucune mention n'est faite dans la littérature du paramphistome. Les parasitoses digestives les plus communes et les plus dangereuses sont les strongyloses gastro-intestinales, bien connues chez les ruminants d'élevage. Les espèces de strongles les plus courantes des petits camélidés sont identiques à celles connus chez ces derniers (Fowler, 2010g). Certains strongles sont spécifiques des camélidés comme *Camelostrongylus*, parasite du compartiment C3 proche d'*Ostertagia* et retrouvé aux Etats Unis, en Australie et en Amérique du Sud. D'autres strongles spécifiques comme *Lamanema* ou *Spiculoptertagi*a existent mais sont pour l'instant restreints aux territoires d'Amérique australe (Ollagnier, 2007).

Les petits camélidés sont donc sensibles à un certain nombre de maladies infectieuses. Cependant les caractéristiques comme la réceptivité et la sensibilité comparées aux autres espèces sont encore mal connues. Ainsi chaque cas évoquant au vétérinaire une maladie connue dans une autre grande espèce devant faire l'objet d'une documentation précise sur le sujet afin de mieux cerner les enjeux de la maladie chez les petits camélidés.

1.2.2.2 – Pathologie systémique non infectieuse

Ce sous-chapitre regroupe toutes les maladies non infectieuses ayant des répercussions sur l'ensemble de l'organisme : maladies métaboliques, endocriniennes, nutritionnelles ou multifactorielles. L'attention sera portée particulièrement sur deux maladies métaboliques, auxquelles l'alpaga est particulièrement sujet et sur le syndrome de stress thermique pouvant engendrer des défaillances multi-organiques.

- **Désordres du métabolisme des glucides et des lipides**

Afin de mieux cerner les enjeux des maladies métaboliques de l'alpaga, un point sur le métabolisme glucidique est nécessaire, car il est différent des systèmes connus chez les ruminants et chez les carnivores domestiques.

En effet, toutes les études biochimiques menées sur lamas et alpagas ont montré que ces petits camélidés ont une glycémie plus élevée que les ruminants, se rapprochant de celle que l'on connait chez les monogastriques. De plus, ces animaux peuvent présenter une réponse hyperglycémique exacerbée, lors de situations inconnues ou particulièrement stressantes. Ces particularités ont été expliquées par de récentes études mettant en évidence une réponse à l'insuline lente et une résistance insulinique modérée, mettant l'animal en conditions de type « diabète ». Chez les ruminants, le glucose est majoritairement issu de la néoglucogenèse hépatique, utilisant le propionate, produit par la fermentation des glucides rapidement fermentescibles. Or, chez les petits camélidés, les rations sont très pauvres en ce type de glucides. Cela pose donc la question des mécanismes permettant un maintien élevé de la glycémie (Van Saun, 2006). D'une part, les petits camélidés présentent meilleure absorption gastro-intestinale du glucose (Cebra, 2009), une sécrétion lente d'insuline et une résistance modérée à l'insuline. D'autre part, de récentes études supposent

l'utilisation d'autres précurseurs du glucose : des acides aminés glucoformateurs ou d'autres acides gras à courte chaine comme l'acétate ou le butyrate, tous deux issus de la fermentation des fourrages (Van Saun, 2006).

Lamas et alpagas sont prédisposés aux hyperglycémies de stress. Ces dernières ont rarement besoin d'être traitées, la suppression de l'agent de stress et la mise à disposition d'eau de boisson suffisent dans la plupart des cas. Dans des cas extrêmes d'hyperglycémie majeure et prolongée, des désordres osmolaires peuvent cependant apparaître (Cebra, 2009).

Par ailleurs, lamas et alpagas sont aussi particulièrement prédisposés aux syndromes de déséquilibres énergétiques. En effet, si la ration est déficitaire en énergie, ou si l'animal ne se nourrit pas, la mobilisation des réserves graisseuses aboutit à l'augmentation des acides gras non estérifiés dans la circulation sanguine, concomitante à l'augmentation des corps cétoniques produits par le foie. Du fait de la réponse lente à l'insuline et de la résistance modérée à celle-ci, la production d'AGNE est mal contenue par l'organisme et la mobilisation des réserves graisseuses exacerbée, favorisant ainsi à moyen terme le dépôt de triglycérides dans les hépatocytes (Cebra, 2009). Ainsi, les femelles en fin de gestation, allaitantes, les animaux ayant une toison particulièrement dense, ou tout animal ayant des besoins énergétiques élevés peuvent être prédisposés à des troubles du métabolisme lipidique auxquels l'espèce est particulièrement sensible. Une attention particulière doit être portée à la qualité des fourrages distribués pour prévenir l'apparition de ceux-ci (Van Saun, 2009).

- **Les surcharges azotées**

Chez l'alpaga, le recyclage de l'urée est très efficace par deux mécanismes majeurs : le recyclage *via* la salive et celui *via* la muqueuse de C1 qui favorise la croissance bactérienne cellulolytique (Jouany, 2000). En effet, les populations microbiennes fermentaires de C1 sont capables comme les bactéries ruminales des vrais ruminants de synthétiser des protéines à partir de sources d'azote non protéique. Ce mécanisme permet de maintenir une production minimale de protéines microbiennes même en cas de régime carencée en azote. La surcharge azotée (ou intoxication à l'urée) est une affection rencontrée uniquement chez les animaux qui présentent cette particularité. En effet, lorsque l'apport en azote soluble dans la ration est bien plus élevé que celui en énergie, la population microbienne de C1 ne peut plus apporter l'énergie nécessaire à la transformation de l'ammoniac issu de l'urée en protéines. Cet ammoniac excédentaire diffuse alors par la paroi de C1 vers la veine porte jusqu'au foie, dont le rôle est de transformer l'ammoniac en urée *via* le cycle de l'urée afin qu'elle soit excrétée ou recyclée. Cependant, en cas de surcharge azotée, la capacité hépatique de détoxification est dépassée et l'ammoniac demeure dans le système circulatoire. Les symptômes observés lors de surcharge azotée résultent de la toxicité de l'ammoniac : tremblements, salivation, trémulations musculaires, coliques, incoordination, décubitus jusqu'à la mort de l'animal. Lors de surcharge aigüe, les symptômes apparaissent entre 10 minutes et 2h après la consommation et les traitements sont souvent illusoires, l'idéal étant de faire avaler à l'animal des solutions acides (vinaigre) et de l'eau froide, afin de favoriser la formation d'ions ammonium solubles dans l'eau et excrétées dans les urines, ou mieux de procéder à une vidange complet du contenu de C1 (Cebra *et al*., 2014).

➢ Le stress thermique

L'alpaga est un animal particulièrement bien adapté aux climats froids et secs. Cependant, il a été introduit dans des pays aux climats très différents, le soumettant à des températures souvent plus élevées. Si sa toison le protège du froid, elle constitue aussi une barrière à la pénétration des rayons thermiques jusqu'à la peau, limitant ainsi le contact direct. De plus, la région ventrale du corps de l'animal est plus pauvre en fibre et elle est donc la fenêtre de dissipation thermique de l'animal (Fowler, 2010h).

Cependant ces adaptations à la chaleur sont limitées et l'alpaga est un animal très sujet au stress thermique si les conditions favorisantes sont présentes. Parmi celles-ci, la température et l'humidité sont les plus importantes. On définit un indice de stress thermique (HSI), chiffrée par l'addition de la température en °F (T(°F) = 1,8 T(°C) + 32) et de l'humidité relative en pourcentage. L'humidité relative correspond au rapport de la quantité de vapeur d'eau contenue dans l'air sur la quantité de vapeur d'eau maximale possible : celle-ci diminue lorsque la température augmente. Ainsi en France, il est difficile de définir une valeur moyenne de l'humidité relative. Dans une même journée, selon l'évolution de la température, la valeur de l'humidité relative peut varier de 40%. Si l'indice est inférieur à 120, la manipulation des animaux est sans danger. S'il est compris entre 120 et 150, toute manipulation, tout traitement en transport inutile doit être évité. S'il est supérieur à 150, la manipulation des animaux est dangereuse et ils doivent être surveillés de près au cours de celle-ci (Jones et Boileau, 2009). Par exemple, pour une température de 28°C et une humidité relative de 40% (air sec), l'HSI est de 122. Pour une température de 20°C et une humidité relative de 65% (air humide), l'HSI est de 133. D'autres facteurs favorisant entrent en jeu dans l'apparition d'un stress thermique comme l'effort musculaire (lutte entre mâles, poursuites etc.), la fièvre ou encore la déshydratation Une affection diminuant l'état général de l'animal ou le maintenant en décubitus sternal peut aussi être un facteur favorisant, car elle rend inaccessible la fenêtre ventrale de dissipation thermique.

La température corporelle d'un alpaga est normalement située entre 37,5°C et 38,9°C. Cependant, il n'est pas rare chez cette espèce que la température d'un animal atteigne les 40°C lors d'une journée chaude, ce qui est très proche pour d'autres espèces d'une température seuil de risque pour des dégâts organiques et tissulaires. Cependant, la température de l'alpaga est rarement notée au-dessus de 43°C, des stress thermiques graves pouvant avoir lieu entre 41,1° et 42,2°C.

L'effet du stress thermique sur l'organisme dépend de la durée de celui-ci, de son intensité et de la présence d'affections intercurrentes. Si le stress thermique est faible et de courte durée, les lésions sont réversibles et le simple refroidissement de l'animal permet à l'organisme la reprise de ses fonctions vitales. Cependant si le stress est intense et prolongé, des lésions irréversibles peuvent s'installer et il peut conduire à la mort de l'animal atteint.

Tous les organes peuvent être touchés par ce syndrome. Pour chaque degré de température corporelle supplémentaire, les besoins en oxygène pour maintenir les fonctions vitales de l'organisme augmentent de 10%, ce qui à terme crée donc une hypoxie. Les animaux peuvent présenter une dyspnée sévère, associée à une acidose respiratoire. Tout le flux sanguin est détourné vers l'irrigation des tissus cutanés ; une dilatation des artérioles périphériques favorisant la dissipation thermique survient, induisant une hypotension relative. La fréquence cardiaque augmente donc lors de stress thermique. L'hypotension relative peut induire une hypoxie cérébrale importante et une nécrose neuronale, provoquant chez l'animal une dépression ou un état convulsif.
Du fait de l'hypovolémie relative, la moindre perfusion du tractus digestif provoque une hypomotilité de celui-ci et peut se manifester par des signes de coliques. Dans des cas sévères, l'hypoxie des hépatocytes peut aller jusqu'à la diminution de production des facteurs de coagulation. Chez la femelle gestante, le syndrome de stress thermique peut provoquer des

avortements mais aussi être à l'origine de malformations congénitales, principalement du système nerveux central (Fowler, 2010h).

Pour les vétérinaires, il est primordial de comprendre les mécanismes de ce syndrome pour pouvoir le traiter au mieux ainsi que toutes ses complications.

En élevage, de nombreuses mesures de prévention peuvent être prises tant sur la gestion de l'environnement, la gestion de la tonte des animaux que sur celle de la reproduction. En effet, les mises-bas de printemps sont préférables à celle d'été sur le plan de la prévention du stress thermique.

1.2.2.3 – Dominantes pathologiques par appareil

Au chevet d'un animal malade, il est important d'avoir une idée des maladies les plus courantes à rechercher, en fonction des appareils touchés. Cette sous-partie dressera un tableau non exhaustif des affections que l'on peut rencontrer chez l'alpaga.

- **Appareil digestif**

Les atteintes de l'appareil digestif sont un pan très vaste de la médecine des petits camélidés et comprennent à la fois des maladies infectieuses, des phénomènes inflammatoires, obstructifs ou encore des maladies métaboliques (Fowler, 2010i). Il sera question ici d'aborder les différences et similitudes de la pathologie digestive des petits camélidés avec celle bien connue des ruminants domestiques.

Comme vu précédemment, les camélidés sont sensibles à nombre de maladies infectieuses communes avec les ruminants ou les équidés, qu'elles soient parasitaires, bactériennes ou virales. La plupart touchent plus ou moins exclusivement l'appareil digestif, comme la colibacillose, la salmonellose, la coccidiose etc. et doivent donc faire partie du diagnostic différentiel lorsque le tableau clinique est évocateur de la maladie (Fowler, 2010i).

Atteintes de la cavité buccale :

Les atteintes de la cavité buccale sont particulièrement difficiles à mettre en évidence chez les petits camélidés car la bouche est étroite et ne peut être ouverte suffisamment pour une exploration large et prudente de la cavité buccale. La mise en évidence de lésions de la muqueuse buccale ou de lésions dentaires nécessite alors souvent une sédation de l'animal (Fowler, 2010i).

Les stomatites peuvent être la conséquence de nombreux processus infectieux (stomatite vésiculeuse, candidose etc.) ou traumatiques (corps étranger, malocclusion dentaire par exemple), dont le traitement passe alors par la résolution de la cause primaire. Les signes cliniques sont souvent frustes : baisse de l'appétit, perte de poids progressive, salivation, halitose, etc. mais peuvent avoir des conséquences importantes sur l'état général de l'animal à long terme (Fowler, 2010i).

Les abcès de la cavité buccale sont aussi décrits chez les petits camélidés et sont causés par des agents bactériens opportunistes qui pénètrent les muqueuses buccales à la faveur d'une brèche ou par voie hématogène. L'agent le plus fréquemment rencontré est *Arcanobacterium pyogenes*. Cependant, en cas de lésions abcédatives ou de présence de fausses membranes découvertes dans la cavité buccale d'un petit camélidé, une nécrobacillose, dont le pronostic est réservé, sera envisagée. En effet, les bactéries en cause sont très difficiles à atteindre par les antibiotiques en raison d'une mauvaise diffusion dans les lésions. Lors de nécrobacillose, l'état général de l'animal est altéré, une hyperthermie marquée est présente ainsi qu'un abattement (Fowler, 2010i).

Enfin, les problèmes dentaires figurent parmi les premiers motifs d'appel des petits camélidés et doivent toujours faire partie du diagnostic différentiel lors d'une baisse d'appétit ou d'une perte de poids insidieuse. Parmi les affections dentaires, l'abcès dentaire et les problèmes de malocclusion sont les plus fréquents. Chaque dent est un candidat potentiel pour un abcès mais les abcès des dents jugales sont beaucoup plus fréquents que ceux des incisives et des canines chez les petits camélidés. Cliniquement, les animaux présentent souvent un gonflement dur et chaud en regard de la dent affectée, due à la réaction osseuse et à l'ostéomyélite parfois secondaire à l'infection. Une fistule peut être présente dans les cas les plus avancés. L'animal est douloureux et réfractaire à la palpation de la déformation en regard de l'abcès (Niehaus, 2009).

Atteintes de l'œsophage :

Chez les petits camélidés, les obstructions œsophagiennes sont moins fréquentes que chez les bovins et chez les équidés. En effet elles sont limitées par une capacité à régurgiter de manière volontaire et plus contrôlée que chez les autres espèces. Cependant, des obstructions œsophagiennes par des pommes ou des bouchons de luzerne sont rapportées. Elles peuvent être partielles ou totales et les signes cliniques sont similaires à ceux rencontrées chez les autres espèces.

Des cas de mégaoesophage sont rapportés chez les petits camélidés, mais l'étiologie n'est pas connue. Il semble qu'ils puissent être congénitaux (mais la transmission héréditaire n'est pas prouvée) ou acquis, notamment par un traumatisme œsophagien. Cliniquement, les régurgitations récurrentes sont le premier signe d'appel, mais l'animal peut aussi présenter une hypersalivation, une dysphagie ou une perte de poids chronique (Fowler, 2010i).

Atteintes des pré-estomacs et de l'estomac :

Les atteintes gastriques peuvent être primaires ou secondaires à une atteinte d'un autre segment du système digestif ou d'un autre système. Contrairement à ce que l'on connait chez les ruminants, les petits camélidés ne sont pas affectés par des déplacements du compartiment C3 (équivalent aux déplacements de caillette), ni par des corps étrangers (du fait d'une sélection plus fine de la préhension) et les acidoses ruminales lactiques aigües ainsi que les météorisations sont plus rares. Cependant, ces deux dernières affections sont à connaître car une prise en charge adaptée et rapide est décisive dans le pronostic d'évolution.

Les gastrites ulcératives sont une affection commune chez les petits camélidés mais sont sous-diagnostiquées et souvent des découvertes d'autopsie. Tous les compartiments sont sujets à ulcérations mais l'étiologie des ulcères reste inconnue. Cliniquement, le degré d'atteinte de l'état général est fonction du degré d'ulcération. Lors d'ulcères non perforants, une baisse de l'appétit, une atonie du compartiment C1 et des selles sèches seront les premiers signes d'appels. Cependant, ce sont des signes frustes et le diagnostic se fait par élimination d'autres causes. Lors d'ulcères perforants, des signes de péritonite s'ajoutent au tableau clinique et du méléna peut être observé (Fowler, 2010i).

Atteinte intestinale :

Les éléments de pathologie intestinale sont similaires à ceux connus chez les ruminants. Cependant, le syndrome de colique des petits camélidés est plus proche de celui des équidés.

Les entérites des petits camélidés, comme celles des ruminants peuvent être primaires ou secondaires. De nombreux maladies bactériennes (colibacillose, salmonellose, paratuberculose) ou parasitaires peuvent causer des entérites. Le premier signe d'appel des entérites est la présence de

diarrhées, mais selon la gravité et l'avancée de la maladie, l'animal peut aussi présenter un abattement, une anorexie, de l'hyperthermie, une atonie de C1, une déshydratation, un syndrome de colique, une augmentation des borborygmes intestinaux etc. La prise en charge est similaire à celle rencontrée chez les ruminants.

Les syndromes occlusifs sont décrits et sont fréquents chez les petits camélidés. Si toutes les formes connues d'obstruction chez les bovins ne sont pas décrites chez les petits camélidés, il est raisonnablement admis qu'elles peuvent cependant survenir. Le tableau clinique dépend du type et du lieu d'obstruction. La physiopathologie est similaire à celle rencontrée chez les bovins. Cependant, un type d'obstruction est plus spécifique aux camélidés : les occlusions par des concrétions gastro-intestinales.

Ces concrétions ou calculs peuvent être de trois natures différentes :

- Des concrétions minérales appelées gastrolithes ou entérolithes : elles sont classiquement retrouvées dans les saccules glandulaires du compartiment C1, qui sont un environnement particulièrement adapté pour leur formation. En effet, une part importante de la sécrétion des glandes sacculaires est constituée de bicarbonates qui favorisent la précipitation de phosphates et de carbonates, autour d'un cœur souvent constitué d'une fibre végétale. Le processus exact de formation de ces gastrolithes est inconnu. Cliniquement, aucun symptôme n'est connu comme associé à la présence de ces concrétions dans les saccules de C1. Cependant, la présence de concrétions minérales au niveau de l'intestin grêle ou du gros intestin peut être à l'origine de lacération de la muqueuse ou d'obstruction totale ou partielle.
- Des pelotes de fibres végétales compactées appelées phytobézoards. Elles peuvent être à l'origine de syndrome occlusif majeur, particulièrement lorsqu'elles se logent au niveau de la portion de formation des boulettes fécales du colon spiralé, site au niveau duquel le diamètre est divisé par 5 par rapport à l'intestin grêle. Les signes cliniques sont les signes classiques d'occlusion totale d'un segment digestif et le pronostic est très réservé en l'absence de chirurgie.
- Des pelotes de fibres animales appelées trichobézoards ou zootrichobézoards. Elles sont rares chez les petits camélidés, qui réalisent rarement leur toilette en se léchant, contrairement aux lagormorphes et aux félins, qui y sont prédisposés. Cependant, des trichobézoards ont été décrits chez des crias qui mâchent la toison de leur mère ou qui sont atteints d'obstruction nasale et dont les difficultés à respirer et à se nourrir les poussent à mâcher des fibres pour calmer leur faim.

Ces trois types de concrétions doivent donc entrer dans le diagnostic différentiel des syndromes occlusifs face à des signes de coliques chez un petit camélidé.

Enfin, il est à noter que les petits camélidés se situent à mi-chemin entre le cheval et le bovin en terme de sensibilité de la muqueuse rectale. Les lacérations rectales sont donc plus fréquentes chez ces derniers que chez les bovins et il faut donc le prendre en compte, lors par exemple de mise-bas dystocique avec intervention de l'éleveur ou du vétérinaire. Chez le lama, une attention particulière doit y être portée si un examen transrectal est nécessaire. Celui-ci est impossible chez l'alpaga (Fowler, 2010i).

Ainsi, de nombreuses atteintes de l'appareil digestif de l'alpaga sont communes avec celles rencontrées chez les ruminants. Cependant certaines spécificités sont à connaître pour classer de manière logique les hypothèses du diagnostic différentiel, notamment l'absence des déplacements du compartiment C3, la rareté des corps étrangers et des acidoses ruminales aigües, mais aussi l'importante prévalence élevée des problèmes dentaires.

➢ Appareil cardio-vasculaire

Les atteintes de l'appareil cardio-vasculaires se distinguent en deux sous-familles majeures : les anomalies cardiaques congénitales, qui sont les plus fréquentes et les plus documentées, et les maladies cardiaques acquises, moins fréquentes.

Les anomalies cardiaques congénitales ne sont pas rares chez les petits camélidés : elles sont regroupées dans un complexe sous le terme anglais de « CHD » (Congenital Heart Disease) et sont à l'origine d'anomalies morphologiques et/ou fonctionnelles du cœur. Une étude rétrospective menée sur des lamas aux Etats-Unis entre 1986 et 1993 met en évidence 3.6% des animaux examinés atteints de CHD.

Parmi les anomalies de ce complexe, la communication interventriculaire est la plus fréquente. A propos de ces affections, la question se pose de la part d'hérédité dans leur transmission, mais le nombre de cas n'est pas encore suffisant pour une réponse tranchée. La mise à la reproduction d'animaux diagnostiqués atteints de CHD est néanmoins déconseillée (Margiocco *et al*., 2009).

Les maladies cardiaques acquises sont rares chez les petits camélidés. La maladie des muscles blancs, ayant pour origine un déficit nutritionnel en vitamine E et Sélénium, et provoquant une nécrose ou une fibrose focale du myocarde a été décrite chez le lama et le dromadaire. Aucun cas de maladie infectieuse spécifiquement cardiaque n'a été rapporté. Les endocardites sont rares et les péricardites font suite à des processus infectieux systémiques ou à des infections pulmonaires graves. La sarcosporidiose est décrite comme la parasitose cardiaque la plus commune chez les grands camélidés, pouvant aller jusqu'à créer des lésions de myocardite interstitielle focale sévère. Cependant, si elle a été décrite chez un alpaga, son incidence chez les petits camélidés n'est pas connue. Un cas de thrombose de l'artère iliaque a été décrit, avec des symptômes similaires à ceux rencontrés chez les carnivores domestiques (Fowler, 2010j).

Les affections de l'appareil cardio-vasculaires sont peu communes chez les petits camélidés et le manque de cas diagnostiqués rend difficile l'évaluation de leur prévalence. La mise en évidence d'une anomalie cardiaque chez un petit camélidé doit donc conduire à l'évaluation précise de toutes les hypothèses diagnostiques.

➢ Appareil respiratoire

Les principales affections décrites de l'appareil respiratoire de l'alpaga sont infectieuses, majoritairement bactériennes.

La pneumonie est fréquente chez les crias, son diagnostic est basé sur l'observation d'une dyspnée et la présence de bruits respiratoires augmentés. Les agents pathogènes responsables du « syndrome pneumonie » sont similaires chez l'alpaga à ceux rencontrés chez les ruminants. La plupart sont des bactéries opportunistes infectant l'animal à la faveur d'une baisse d'immunité. La pneumonie peut aussi faire suite à une septicémie, (pour laquelle l'agent le plus fréquemment isolé est *E.Coli*), à une inhalation de toxiques ou à une fausse déglutition (notamment lors d'alimentation assistée) (Fowler, 2010k). Par ailleurs, la streptococcose est une entité pathologique pouvant aussi être à l'origine de dyspnée chez l'alpaga. Aussi appelée « fièvre de l'alpaga », elle est due à *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, agent de la gourme chez le cheval. Elle est considérée comme la maladie la plus importante des petits camélidés sur les plateaux andins, avec des taux de létalité atteignant 50 à 100%. Elle peut prendre plusieurs formes, les formes aigües et sub-aigües étant plus fréquentes chez les jeunes. La forme systémique induit une atteinte générale des séreuses thoraciques et abdominales, à l'origine de pleurésie, pneumonie et péritonite. Au niveau clinique, l'animal est anorexique, avec de l'hyperthermie, fréquemment en décubitus, dyspnéique et présente des signes de coliques. La mort survient en 4 à 8j (Fowler, 2010c). Aucun cas n'est rapporté en

France, bien que l'agent de la gourme du cheval soit présent sur le territoire, rendant l'apparition de cas possible.

Les affections respiratoires d'origine virale sont rares. Cependant, en 2007 aux Etats-Unis, est apparue une nouvelle maladie sur des lamas et des alpagas appelée « maladie respiratoire supérieure », dont l'étiologie est supposée virale. En effet, l'extrême contagion et la rapidité de diffusion de celle-ci ont conduit à cette hypothèse mais le virus n'a jamais été isolé. La guérison est rapide. Cliniquement, l'animal présente une hyperthermie, du jetage nasal, de la toux et une augmentation de la fréquence respiratoire pour les formes classiques. Des formes plus sévères provoquant une pneumonie ou un œdème pulmonaire à l'origine de dyspnée ou conduisant à la mort, ont été décrites mais l'hypothèse d'une surinfection bactérienne pour ces cas est suspectée (Fowler, 2010k).

Parmi les infections respiratoires parasitaires, deux entités majeures sont à connaître : la dictyocaulose et l'infestation par des larves de mouches. Les agents de ces deux infections sont présents sur le territoire français et donc susceptibles de déclencher la maladie, malgré l'absence de cas documentés.

- La dictyocaulose est déjà bien connue chez les ruminants et est due aux formes adultes de *Dictyocaulus viviparus*, qui se logent dans l'arbre bronchique de l'animal infesté. Les signes cliniques principaux sont : toux, jetage nasal et dyspnée. Les surinfections sont fréquentes.
- L'infestation par des larves d'*Oestrus ovis*, oestre des cavités nasales du mouton ou des larves de *Cephenemyia spp*., oestre du nasopharynx des cerfs. Ces deux infestations sont particulièrement importantes à connaître si le troupeau pâture en compagnie de moutons ou si la pâture est proche d'une forêt permettant un contact avec des cervidés. Dans les deux cas, le petit camélidé est un hôte « aberrant » : il ne fait pas partie du cycle classique, et la réaction de l'organisme est alors d'autant plus exacerbée. Dans le cas d'*Oestrus ovis*, la mouche pond ses œufs autour des narines, et la gêne provoquée oblige l'animal à se gratter sur un congénère ou un arbre, permettant la progression des larves dans les cavités nasales. Les durées de maturation des larves ne sont pas connues chez les petits camélidés. Cliniquement, l'animal présente du jetage nasal, des éternuements et se tient le museau vers le bas. Dans le cas de *Cephenemia spp*, les larves sont projetées par l'adulte dans les cavités nasales, ce qui provoquent une réaction comportementale semblable à celle rencontrée avec *Oestrus ovis*, puis migrent jusqu'au nasopharynx. Cette affection est principalement décrite chez le lama, qui n'étant pas un hôte normal, développe une réaction granulomateuse plus ou moins importante autour des larves. Cliniquement, l'animal présente du jetage nasal, de la toux, une intolérance plus ou moins marquée à l'effort. Si la lésion est trop obstructive, des signes de dyspnée peuvent être observés (Fowler, 2010g).

Enfin, la coccidioidomycose déjà vue précédemment est une maladie d'origine fongique pouvant provoquer des problèmes respiratoires sévères, lorsque les granulomes se forment dans la cavité thoracique ou le poumon (Fowler, 2010c).

Ainsi, les infections hautes ou basses de l'appareil respiratoire peuvent être la conséquence de nombreux agents étiologiques différents. Cependant, les lésions d'origine traumatiques ou congénitales peuvent aussi provoquer des problèmes respiratoires sévères, comme l'atrésie bilatérale des choanes ou l'obstruction des cornets nasaux, les petits camélidés respirant principalement par le nez (Fowler, 2010k).

➢ Appareil reproducteur

Dans ce paragraphe, l'attention sera portée sur les affections de l'appareil génital femelle, principalement autour de la gestation. En effet, l'importance économique du bon déroulement d'une gestation en élevage impose de connaître quelques bases de pathologie autour du part.

La particularité du cycle de la femelle alpaga ne permet pas d'extrapoler toutes les causes d'infertilité rencontrées chez les petits ruminants ou chez les bovins. Si ces causes ont fait l'objet d'études notamment en Amérique du Nord, la recherche dans ce secteur n'est pas aboutie. Des anomalies congénitales sont à l'origine de nombreux cas d'infertilité chez la femelle : hypoplasie ovarienne, hypoplasie ou aplasie segmentaire du tractus reproducteur, double col etc. Des anomalies du cycle ovarien peuvent aussi entrer en jeu. Chez les petits camélidés, des échecs d'ovulations sont observés chez 15% des femelles : le follicule est mûr mais n'ovule pas après accouplement, ni après injection de GnrH. Les échecs au maintien d'un corps jaune sont aussi décrits comme une entité pathologique et nécessite alors la mise en place d'un implant de progestérone pour soutenir la gestation. Enfin des anomalies physiques comme des anomalies de conformation vulvaire, des notes d'état corporel trop faible, ou encore des inflammations chroniques du tractus reproducteur peuvent être à l'origine d'infertilité chez la femelle (Fowler, 2010d).

Contrairement à ce qui est décrit chez les ruminants, les dystocies sont rares. Des études menées en Amérique du Sud sur plus de 1500 naissances d'alpagas ont montré que moins de 2% des mises bas sont dystociques et que parmi celles-ci, 25% sont observées sur des femelles primipares (Anderson, 2009). Parmi les causes de dystocie chez les petits camélidés, les malpositions fœtales arrivent au premier rang, la position antérieure sacro-dorsale avec la tête du cria retournée vers l'arrière étant la plus courante (Fowler, 2010d). Les torsions utérines sont rares mais existent chez l'alpaga. Les origines de celles-ci sont à ce jour inconnues mais les cas rapportés autorisent tous les sens de torsion et des rotations de 90° à 360° (Anderson, 2009). A la suite de la mise bas, les métrites sont rares, excepté en cas de dystocie avec traumatisme des muqueuses lors des manipulations obstétricales (Fowler, 2010d).

La gestion de la pathologie de la reproduction chez l'alpaga est donc différente de celle des ruminants d'une part du fait de l'originalité du cycle de la femelle, et d'autre part par l'accessibilité limitée par palpation transrectale aux structures concernées. Elle nécessite donc une bonne connaissance des spécificités de l'animal en termes de reproduction.

➢ Tractus urinaire

Tout comme le sont les autres systèmes, le système urinaire des petits camélidés est souvent touché par des affections déjà connues ou décrites chez les ruminants ou les animaux de compagnie.

Des maladies infectieuses systémiques comme la leptospirose, la coccidiodomycose ou toute septicémie peuvent causer des atteintes rénales graves (Fowler, 2010c).

Atteintes du haut appareil urinaire :

Selon Fowler, les atteintes rénales de type insuffisance rénale aigüe sont rares, mais certains auteurs estiment que c'est une cause fréquente de mort, comme complication possible d'une maladie primaire.

Les causes et mécanismes physiopathologiques des insuffisances rénales aigües ou chroniques sont les mêmes que ceux connus dans les autres espèces. La néphrotoxicité de la gentamycine est aussi reconnue chez les petits camélidés (Fowler, 2010l).

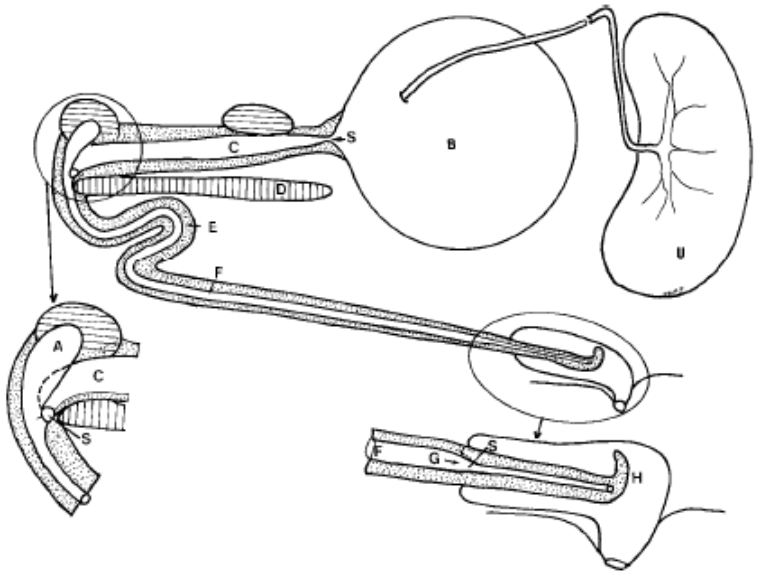
Atteintes du bas appareil urinaire :

Les cystites et urétrites sont décrites chez l'alpaga et sont plus fréquentes chez la femelle, dont l'urètre est plus court favorise la pénétration de germes opportunistes. Cliniquement, les mictions sont alors plus fréquentes, douloureuses et de petits volumes.

Les calculs urinaires sont aussi connus chez les petits camélidés. Plus fréquemment formés dans la vessie que dans le rein, ils obstruent plus ou moins totalement la lumière de l'urètre ou de l'uretère, en fonction de leur provenance. Les sites les plus fréquents d'obstructions urétrales tiennent à l'anatomie de l'urètre des petits camélidés, schématisée par la figure 11 ci-après. Elle diffère de celle des bovins, chez qui l'inflexion sigmoïde du pénis est le site majeur d'obstruction. Chez les petits camélidés, les trois sites privilégiés d'obstruction sont l'entrée de l'urètre pelvien, l'inflexion de l'urètre pelvien vers l'urètre extrapelvien, au niveau duquel le récessus urétral ne ménage qu'un mince espace pour l'écoulement de l'urine, ainsi que le site de transition de l'urètre pénien dans l'urètre cheminant dans le gland, au niveau duquel le diamètre diminue (Fowler, 2010l).

Figure 11 – Sites privilégiés d'obstructions urétrales chez les petits camélidés (Fowler, 2010l)

a : recessus uretral, b : vessie, c : urètre pelvien, d : os pubien, e : inflexion sigmoïde, f : urètre pénien, g : extrémité du gland, h : projection cartilagineuse à l'extrémité du pénis, s : sites privilégiés d'obstruction urétrale, u : rein



Les obstructions urétrales sont plus fréquentes chez les mâles non castrés chez les petits camélidés. Cliniquement, l'animal présente des coliques, une mise en position de miction répétée et infructueuse. Si l'obstruction n'est pas prise en charge à temps, elle peut évoluer vers la rupture vésicale et l'uropéritoine. Les obstructions urétrales sont traitées chirurgicalement par exérèse simples des calculs simples lorsqu'ils sont distaux, ou urétrostomie, voire amputation du pénis si nécessaire. Le pronostic reproducteur est donc souvent sombre (Fowler, 2010l).

Ainsi, le tractus urinaire des petits camélidés est sensible à des affections déjà bien connues chez les bovins et les petits animaux de compagnie. Le raisonnement diagnostique se fait donc sur la base des connaissances dans les autres espèces, adapté à l'anatomie des petits camélidés et à quelques spécificités.

➢ Système nerveux

Des affections neurologiques sont décrites chez les petits camélidés et nombre d'entre elles sont communes aux autres espèces d'élevage. Les présentations cliniques sont très diverses et devront faire l'objet d'un diagnostic différentiel rigoureux, notamment avec les maladies métaboliques et les atteintes musculo-squelettiques. L'historique du patient, un examen clinique et neurologique complet ainsi que des examens complémentaires au besoin aideront le vétérinaire à conclure ou non à une atteinte neurologique et à poser des hypothèses diagnostiques adaptées (Whitehead et Bedenice, 2009). Les atteintes neurologiques peuvent être regroupées en plusieurs grandes familles : les anomalies congénitales, les maladies dégénératives, les atteintes d'origine métabolique, inflammatoire, infectieuse, nutritionnelle, toxique, traumatique, vasculaire ou encore néoplasique.

Les atteintes d'origine infectieuse ou inflammatoire sont les plus décrites chez les petits camélidés. Ceux-ci sont sensibles à de nombreuses maladies déjà connues chez d'autres espèces. Comme tous les mammifères, l'alpaga est sensible au virus rabique [(Fowler, 2010c). Parmi les atteintes connues chez les ruminants, la listériose est décrite chez les petits camélidés. Elle est peu commune mais les cas décrits montrent une évolution rapide des signes cliniques, ne se manifestant pas uniquement par une atteinte latéralisée mais aussi par une dépression, un décubitus et des phases de crises. Le pronostic est très réservé. L'alpaga est aussi sensible aux encéphalites virales équines, bien que l'exposition à celles-ci soit faible. La maladie de West-Nile provoque chez l'alpaga des cas sporadiques de méningo-encéphalite non suppurées fatals. Bien que ces animaux soient peu à risque de développer des signes cliniques de West-Nile, les cas décrits observent des signes neurologiques. De même, les petits camélidés sont sensibles à l'herpesvirus équin EHV-1 et l'infection provoque des signes nerveux sévères : cécité, opisthotonos, trémulations de la face et fasciculations des oreilles, dépression etc. Cependant, l'exposition aux virus est très limitée, tant que l'animal est peu exposé aux contacts avec des équidés. Par ailleurs, comme chez de nombreuses espèces, des cas d'otite interne ou moyenne sont décrits, la paralysie du nerf facial pouvant y être associée en tant que complication. Des méningites, méningoencéphalites ainsi que des abcès cérébraux sont décrits principalement chez les crias et font suite à des septicémies sévères. Ils peuvent alors être le reflet d'un défaut de transfert d'immunité passive chez ces jeunes (Whitehead et Bedenice, 2009).

Parmi ces maladies, une maladie parasitaire est spécifique des camélidés : la myélopathie parasitaire, appelée aussi « Meningeal Worm ». Elle est due à un nématode, *Parelaphostrongylus tenuis,* dont l'hôte définitif normal est le cerf de Virginie, dont la distribution est très large aux Etats-Unis (Whitehead et Bedenice, 2009). Le camélidé se contamine en ingérant un hôte intermédiaire mollusque infesté par une larve du parasite, qui va migrer jusqu'aux sinus veineux de la dure-mère, en passant le long des nerfs spinaux, jusqu'à la moelle épinière. Les signes cliniques sont d'autant plus importants chez les petits camélidés, que ceux-ci ne sont pas les hôtes définitifs normaux du parasite. Ils sont fonction des lieux de migration des larves. Les animaux peuvent présenter une ataxie, une paraplégie, une rigidité, une hypermétrie, une position anormale de la tête et des membres etc. Si les signes cliniques sont sévères et le pronostic réservé, l'exposition à cette parasitose est limitée à des conditions de vie particulières et aucun cas n'est rapporté en France (Fowler, 2010g).

Parmi les causes nutritionnelles d'atteinte nerveuse, des cas de nécrose du cortex cérébral ont été décrits chez les petits camélidés. La cause exacte n'est pas connue mais elle est associée à des changements alimentaires et à une ingestion excessive de glucides. L'hypomagnésémie ou l'hypoglycémie peut être comme chez les autres espèces à l'origine de troubles neurologiques.

Enfin, parmi les atteintes neurologiques traumatiques, les lésions des vertèbres cervicales (luxation, sub-luxation par exemple) semblent plus fréquentes chez les petits camélidés que chez les autres espèces. Le traumatisme n'est pas souvent observé par le propriétaire et la lésion peut passer inaperçue jusqu'à la tonte en l'absence de signe clinique associé. La gravité des signes cliniques dépend du degré d'atteinte de la moelle épinière par compression : position anormale de la tête, ataxie, décubitus etc. L'affection peut être chronique ou aigüe. Dans le cas d'atteinte chronique, la mise en place des signes cliniques fait suite à une inflammation ou une fibrose locale (Whitehead et Bedenice, 2009).

Ainsi, les origines des symptômes neurologiques peuvent être très diverses chez les petits camélidés et réunissent à la fois des maladies connues chez d'autres espèces et des affections qui leur sont plus spécifiques.

La pathologie médicale de l'alpaga d'élevage en France est donc peu documentée : la plupart des cas cliniques publiés relatent des affections rencontrées aux Etats Unis. La réflexion autour d'un alpaga présenté à un vétérinaire doit s'articuler autour de connaissances précises sur les particularités physiologiques de cet animal, sur les maladies particulières déjà rencontrées à l'étranger et doit s'inspirer des maladies connues chez les bovins, équins et petits ruminants d'élevage. L'examen clinique complet est indispensable pour alors orienter le diagnostic et peut s'accompagner d'examens complémentaires à priori simples comme la prise de sang, dont les bases théoriques et la réalisation pratique doivent être maitrisées par le vétérinaire traitant.

1.2.3 - Particularités de la ponction veineuse

L'examen clinique de l'animal ne permet pas toujours à lui seul d'aboutir à un diagnostic et l'analyse des paramètres biochimiques et hématologiques constituent un complément majeur à l'établissement du diagnostic.

Cependant, la voie d'abord de la veine jugulaire est plus complexe chez les petits camélidés que chez les ruminants. En effet, cette complexité tient aux spécificités de l'anatomie du cou et des rapports de cette veine.

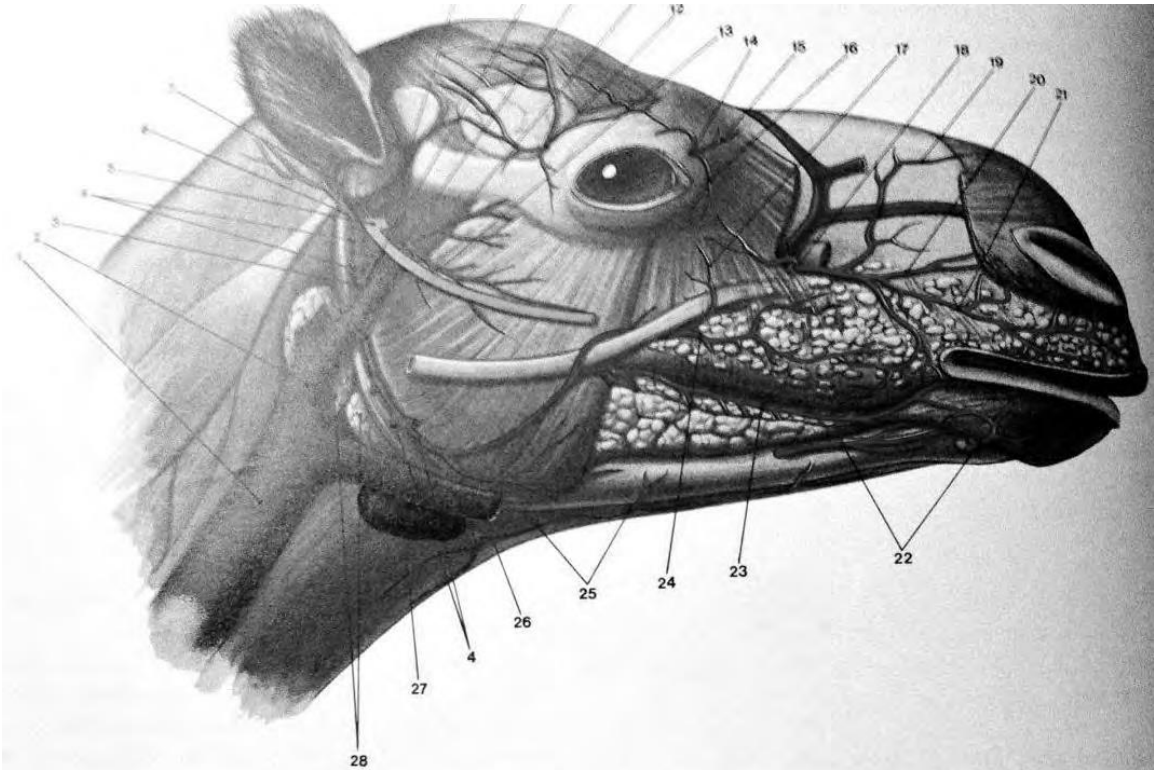
1.2.3.1 – Notions d'anatomie de la région du cou chez les petits camélidés (Fowler, 2010f)

Chez les camélidés, comme le montre la figure 12 ci-dessous, la veine jugulaire est issue de la confluence des veines linguale, faciale et maxillaire et prend naissance environ 1 cm caudalement à la branche de la mandibule, au sein même du bord ventral de la glande parotide.

Figure 12 – Vascularisation de la tête du chameau et départ de la veine jugulaire (Azzopardi, 2012)

(1) Veine jugulaire, (2) veine faciale, (26) veine maxillaire, (28) glandes parotide et maxillaire

La veine linguale n'est pas visible sur ce schéma.



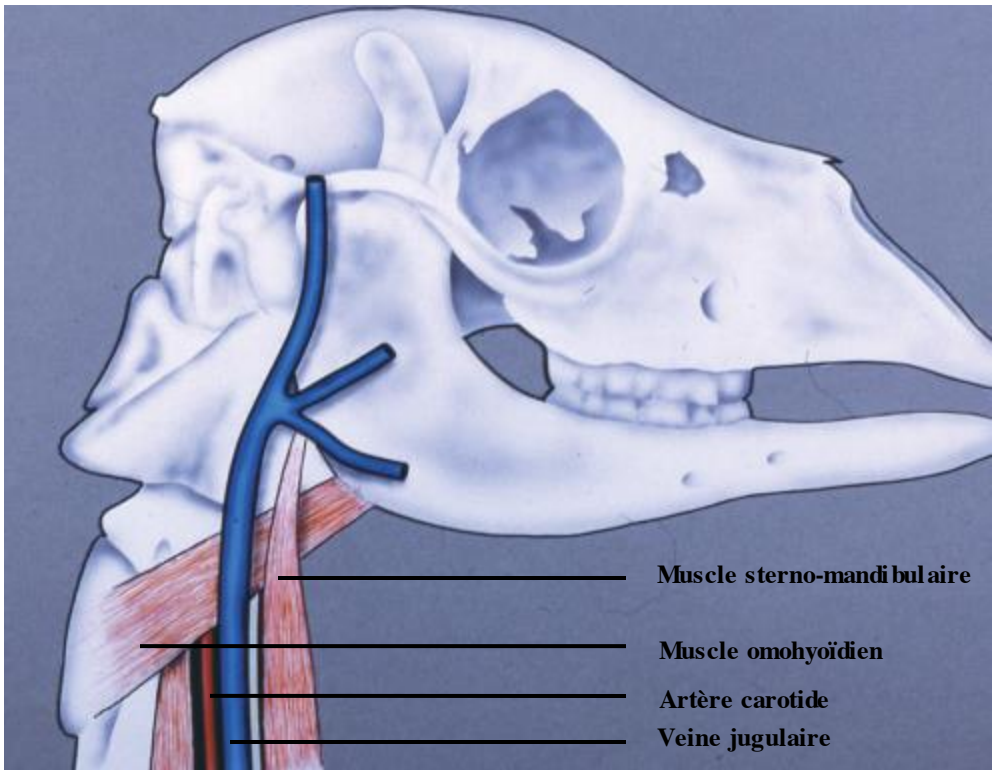
A son point de départ, la veine jugulaire est alors très superficielle et se trouve latérale au tendon d'attache du muscle sterno-mandibulaire à la mandibule. Elle se place ensuite dorsalement à ce muscle et plonge pour arriver en sa face médiale. Elle passe ensuite superficiellement au muscle omo-hyoïdien, qui la sépare de la carotide sur environ une dizaine de centimètres.

Chez les bovins et les équidés, c'est ce muscle omo-hyoïdien et son fascia qui constitue le bord profond du sillon jugulaire sur une majeure partie de l'encolure. Etant positionné différemment chez les camélidés, ce muscle ne réalise qu'une séparation ponctuelle et étroite entre la veine jugulaire et l'artère carotide.

La veine jugulaire poursuit sa trajectoire médialement au muscle sterno-mandibulaire, en profondeur et s'insère alors dans un fascia comprenant à la fois la veine jugulaire, l'artère carotide et le tronc vago-sympatique. Il n'y a donc pas de sillon jugulaire chez les camélidés, ce qui rend difficile l'identification de la veine jugulaire pour sa ponction. De plus, si la ponction est réalisée sans précaution, il y a un risque important de ponction de l'artère carotide.

La figure 13 ci-dessous illustre le parcours de la veine jugulaire depuis son départ.

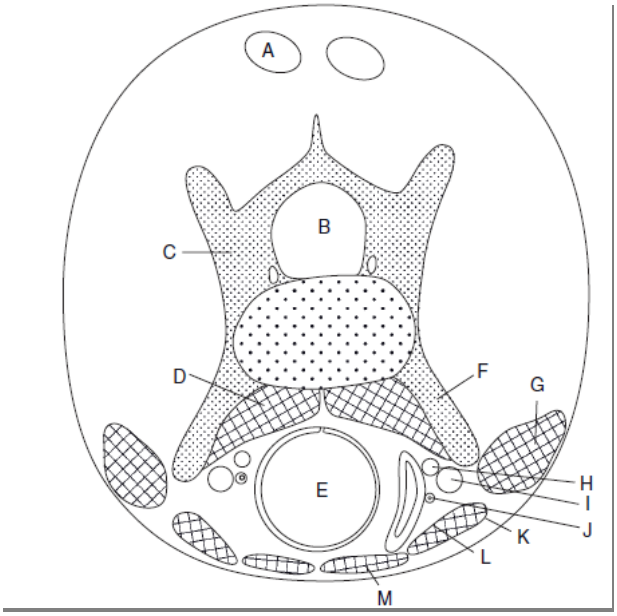
Figure 13 – Rapports anatomiques de la veine jugulaire après son départ (Fowler, 2010f)



De plus, les gros vaisseaux du cou des camélidés sont protégés par de longs processus transverses des vertèbres cervicales formant un U inversé, dans lequel la veine jugulaire se loge médialement, comme le montre la figure 14 ci-dessous. La longueur et la disposition de ces processus empêchent un accès facile pour la ponction veineuse, contrairement aux autres ruminants domestiques.

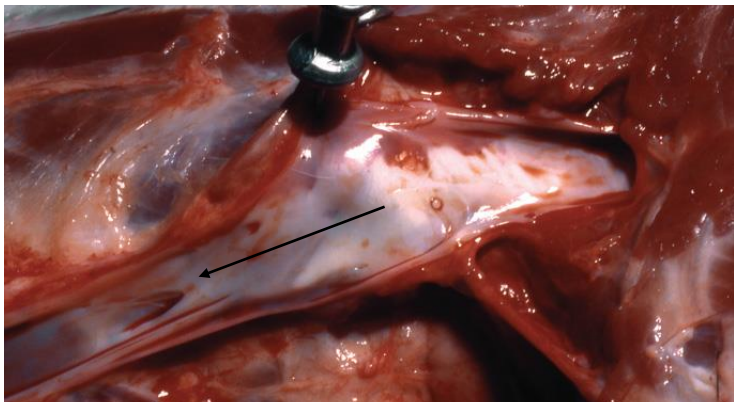
Figure 14 - Schéma d'une coupe transversale de cou au niveau de la sixième vertèbre cervicale (Fowler, 2010f)

(A) Ligament nucal, (B) canal vertébral, (C) vertèbre, (D) muscles, (E) trachée, (F) extension ventrale du processus transverse de la vertèbre, (G) muscle brachiocéphalique, (H) artère carotide, (I) veine jugulaire, (J) tronc vagosympathique, (K) muscle sternomandibulaire, (L) œsophage, (M) muscle sternothyro-hyoïdien.



Par ailleurs, comme chez tous les animaux à long cou, comme la girafe, les gros vaisseaux sont munis de valves anti-reflux pour limiter le reflux sanguin vers la tête lorsque celle-ci est baissée pour l'alimentation ou la prise de boisson. La photographie 12, ci-après met en évidence une de ces valves dans la veine jugulaire. Chez le lama, il est décrit 4 à 5 valves distribuées de la naissance de la jugulaire jusqu'à son entrée dans le thorax : la première étant située à son point de départ, la seconde environ 5 cm plus loin, et les suivantes étant espacées de 15 à 20 cm dont une se logerait en regard de la sixième vertèbre cervicale. Aucune donnée n'est clairement disponible sur l'alpaga.

Photographie 12 - Valve anti – reflux présente dans la partie haute du cou des camélidés, environ 5 cm caudalement au départ de la veine jugulaire (Fowler, 2010f)



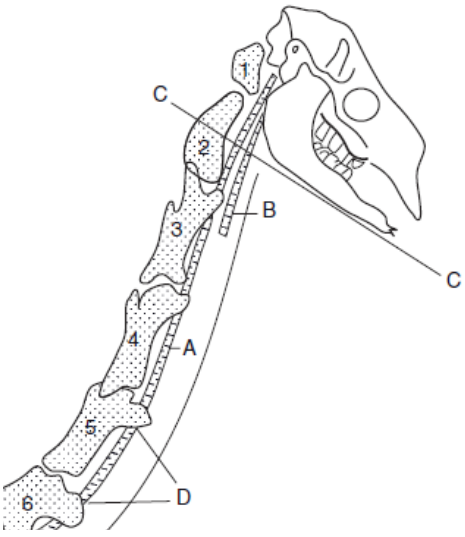
De nombreuses contraintes anatomiques existent donc lors de la réalisation d'une ponction veineuse à la veine jugulaire chez l'alpaga. Deux sites de ponctions sont donc privilégiés, présentant chacun des avantages et des inconvénients propres.

1.2.3.2 – Les sites privilégiés de ponction de la veine jugulaire

La ponction de la veine jugulaire peut s'effectuer en deux sites principaux : une ponction haute en regard de la deuxième vertèbre cervicale et une ponction basse en regard de la sixième vertèbre cervicale. Ces deux sites de ponction sont illustrés sur la figure 15 ci-dessous.

Figure 15 – Sites privilégiés de ponction de la veine jugulaire chez l'alpaga (Fowler, 2010f)

(A) Veine jugulaire, (B) muscle sternomandibulaire, (C) Site de ponction haute, (D) sites de ponction basse



Dans tous les cas, il est fortement déconseillé de tondre l'animal lorsque cela est possible, car la toison est précieuse et longue à repousser. De même, il est toujours préférable de prélever la veine jugulaire droite, l'œsophage passant médialement à la veine jugulaire gauche (Garcia Pereira *et al*., 2006).

➢ **La ponction haute** (Fowler, 2010f)

La ponction haute s'effectue en regard de C2, à la naissance de la veine jugulaire. Au niveau du site de ponction, la séparation de la veine jugulaire et de l'artère carotide par le muscle omohyoïdien offre l'avantage d'une ponction sécurisée sans risque de délabrement de la carotide. De plus, c'est la position la plus superficielle de la veine lors de son trajet. Cependant à ce niveau du cou, la peau est plus épaisse et la visualisation de la veine est impossible. La localisation de celle-ci demande donc à l'opérateur la connaissance de ses repères et la palpation du ballotement veineux.

Le site de ponction de la veine jugulaire se situe légèrement dorsalement à l'intersection de la ligne longeant le bord ventral de la mandibule et celle délimitée par le bord dorsal du muscle sternomandibulaire, identifiable par palpation. Une fois ce site identifié, la compression digitée s'effectue ventralement au corps de la vertèbre, la seconde main devant localiser par palpation la veine ainsi occlue.

➢ **La ponction basse** (Fowler, 2010f)

La ponction basse s'effectue en regard de C6, parfois en regard de C5, dont les processus vertébraux ventraux sont saillants et identifiables aisément par palpation. Au niveau du site de ponction, la peau est fine et les mouvements de la tête de l'animal sont moins gênants que pour la ponction haute. Cependant, il y a plus de laine à ce niveau, ce qui peut rendre plus difficile l'analyse des repères. De plus, à ce niveau-là du cou, la veine jugulaire se situe dans le même fascia que l'artère carotide, le risque de ponction n'est donc pas négligeable, bien que celle-ci soit plus profonde.

Pour effectuer une ponction basse, l'animal doit avoir la tête légèrement inclinée vers le haut. Dans la plupart des cas, l'identification nette de la veine n'est pas possible du fait de sa position. L'opérateur effectue la compression de la veine en maintenant fermement de tous ses doigts le processus ventral de C6, la veine jugulaire se situe juste médialement à celui-ci. L'aiguille doit alors être piquée légèrement médialement et cranialement à cette compression en orientant celle-ci vers le centre du cou.

1.2.3.3 – Autres sites possibles de prélèvements sanguins (Fowler, 2010f)

D'autres sites de ponction veineuse sont possibles mais plus rarement utilisés en raison de la difficulté de contention ou du petit volume prélevable.

Sur un animal couché, on peut ainsi prélever la veine saphène interne ou la veine céphalique, comme chez les chiens et les chats, et obtenir un volume suffisant pour une analyse de routine, mais ces ponctions nécessitent une contention optimale sur des animaux calmes.

Pour de petits volumes, les veines présentes dans l'oreille (illustrées par la photographie 13 ci-dessous) et la veine coccygienne sont utilisables. Contrairement à celle des bovins, la veine coccygienne de l'alpaga est très superficielle et sa ponction est simple.

Photographie 13 – Ponction veineuse à l'oreille sur un lama

(Fowler, 2010f)

Ainsi, les rapports anatomiques de la veine jugulaire des petits camélidés sont différents de ceux connus chez les ruminants d'élevage et les petits animaux de compagnie et sont à bien connaître afin de maitriser au mieux une des deux techniques de ponction veineuse. Une fois celle-ci réalisée, l'interprétation des résultats biochimiques ou hématologiques dépend de valeurs de référence, peu documentées chez l'alpaga.

1.3 Etudes des données connues sur les paramètres hématologiques et biochimiques de l'Alpaga

1.3.1 – A propos des paramètres hématologiques

1.3.1.1 Rappels de bases scientifiques et techniques en hématologie générale

L'hématologie est la discipline consacrée à l'étude des cellules sanguines et de leurs précurseurs. Le sang est constitué par l'association d'un fluide riche en protéines appelé plasma et de différents types de cellules sanguines en suspension :

- Les globules rouges, ou hématies
- Les globules blanc, ou leucocytes composés par
  - Les lymphocytes
  - Les monocytes
  - Les granulocytes : éosinophiles, neutrophiles et basophiles
- Les plaquettes, ou thrombocytes (Kerr, 2002).

L'étude des cellules sanguines est réalisée à partir d'un examen appelé hémogramme, qui comprend :

- Une numération : qui dénombre les différents types de lignées sanguines par unité de volume de sang
- La formule sanguine : qui établit le pourcentage de chaque lignée de leucocytes
- L'examen d'un frottis sanguin : qui permet l'étude des morphologies cellulaires (Cordonnier et Fontaine, 2005).

L'hémogramme doit être réalisé à partir de sang veineux prélevé ou immédiatement transféré (pour les mammifères) dans un tube à bouchon violet contenant de l'EDTA (Ethylène Diamine Tétra Acétate) (Cordonnier *et al*., 2014).

- **Généralités à propos de la numération formule sanguine**

Les rappels énoncés ci-dessous sont valables pour toutes les espèces. L'attention sera portée par la suite aux particularités des petits camélidés.

Numération de la lignée rouge et paramètres calculés : (Cordonnier et Fontaine, 2005)

Les résultats de la numération formule sanguine sont à la fois des valeurs brutes relevées par l'appareil de mesure et des valeurs calculées à partir de ceux-ci. Les paramètres bruts sont :

- La numération globulaire (ou N.G.) : nombre de globules rouges par unité de volume sanguin. Elle permet de mettre en évidence une anémie en cas de diminution pathologique, ou une polyglobulie en cas d'augmentation pathologique.

- L'hématocrite (ou HCT) : pourcentage représentant la part du volume sanguin occupée par la population érythrocytaire. Ses variations sont semblables à celle de la numération globulaire.

- Le taux d'hémoglobine : masse d'hémoglobine présente par unité de volume sanguin. Il est corrélé aux variations de l'hématocrite et de la numération globulaire.

- Le taux de réticulocytes : pourcentage représentant la part de réticulocytes parmi l'ensemble de la population erythrocytaire. Il est ininterprétable seul et doit être lu avec la numération réticulocytaire.

A partir de ces paramètres, les quatre paramètres suivants sont calculés.

- Le volume globulaire moyen (ou VGM) : volume moyen d'un globule rouge, calculé par le rapport de l'hématocrite sur la numération globulaire. Il permet de caractériser la population de globules rouges de normocytaire, microcytaire (si il est inférieur à la normale), macrocytaire voire mégalocytaire (quand il est très augmenté). Cependant, il est à lire en prenant en considération l'aspect des cellules sur le frottis sanguin.
- La teneur globulaire moyenne en hémoglobine (ou TGMH) : quantité d'hémoglobine présente en moyenne dans un globule rouge, calculée par le rapport du taux d'hémoglobine sur la numération globulaire
- La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (ou CCMH) : concentration moyenne en hémoglobine d'un globule rouge, calculée par le rapport du taux d'hémoglobine sur l'hématocrite. Les deux paramètres précédents permettent de caractériser une population de globules rouges de normochrome ou d'hypochrome.
- La numération réticulocytaire : nombre de réticulocytes circulants par unité de volume sanguin, calculé à partir de la numération globulaire et du taux de réticulocytes. Elle est utilisée pour caractériser une anémie chez les espèces ou il n'est pas nul de façon physiologique, comme chez le cheval ou, pour certains auteurs, les ruminants. Le réticulocyte étant le stade de l'érythropoïèse précédent celui de l'hématie mûre, sa présence en grande quantité dans le sang lors d'anémie témoigne d'une régénération de la lignée érythrocytaire, l'interprétation du caractère régénératif ou arégénératif d'une anémie nécessitant alors l'établissement de valeur seuil.

Numération de la lignée leucocytaire et formule leucocytaire : (Cordonnier et Fontaine, 2005)

La numération leucocytaire détermine le nombre de cellules sanguines appartenant à la lignée leucocytaire par unité de volume sanguin. Une numération détaillée de chaque type de famille leucocytaire (monocytes, lymphocytes, éosinophiles, basophiles, neutrophiles) est aussi obtenu lors d'une analyse de numération-formule sanguine. La formule leucocytaire est la part occupée en pourcentage par chaque type de leucocytes parmi l'ensemble de la population leucocytaire circulante. Seules les données numériques sont interprétables, les pourcentages ne peuvent être lus qu'à la lumière de ces dernières.

Les granulocytes, quels que soient leur type, sont des leucocytes « de passage ». Il s'agit des cellules qui gagnent les tissus conjonctifs pour en assurer les défenses immunitaires non spécifiques et participer aux processus inflammatoires en cas d'agression. Les granulocytes neutrophiles sont principalement orientés vers la lutte contre les bactéries, grâce à des capacités importantes de phagocytose. Les granulocytes éosinophiles, dont les capacités de phagocytose sont plus réduites, sont particulièrement impliqués dans la destruction des parasites intra-tissulaires par cytotoxicité, des immun complexes et dans la modulation des réactions inflammatoires. Quant aux granulocytes basophiles, ils assurent un rôle proche des mastocytes tissulaires, par dégranulation de molécules pro-inflammatoires. Ainsi, une augmentation de la numération neutrophilique (neutrophilie) est en faveur d'une maladie infectieuse, notamment bactérienne voire d'une infection suppurée ; une augmentation de la numération éosinophilique (éosinophilie) peut être en faveur d'une infestation parasitaire tissulaire, d'un phénomène allergique ou encore d'une résorption d'histamine.

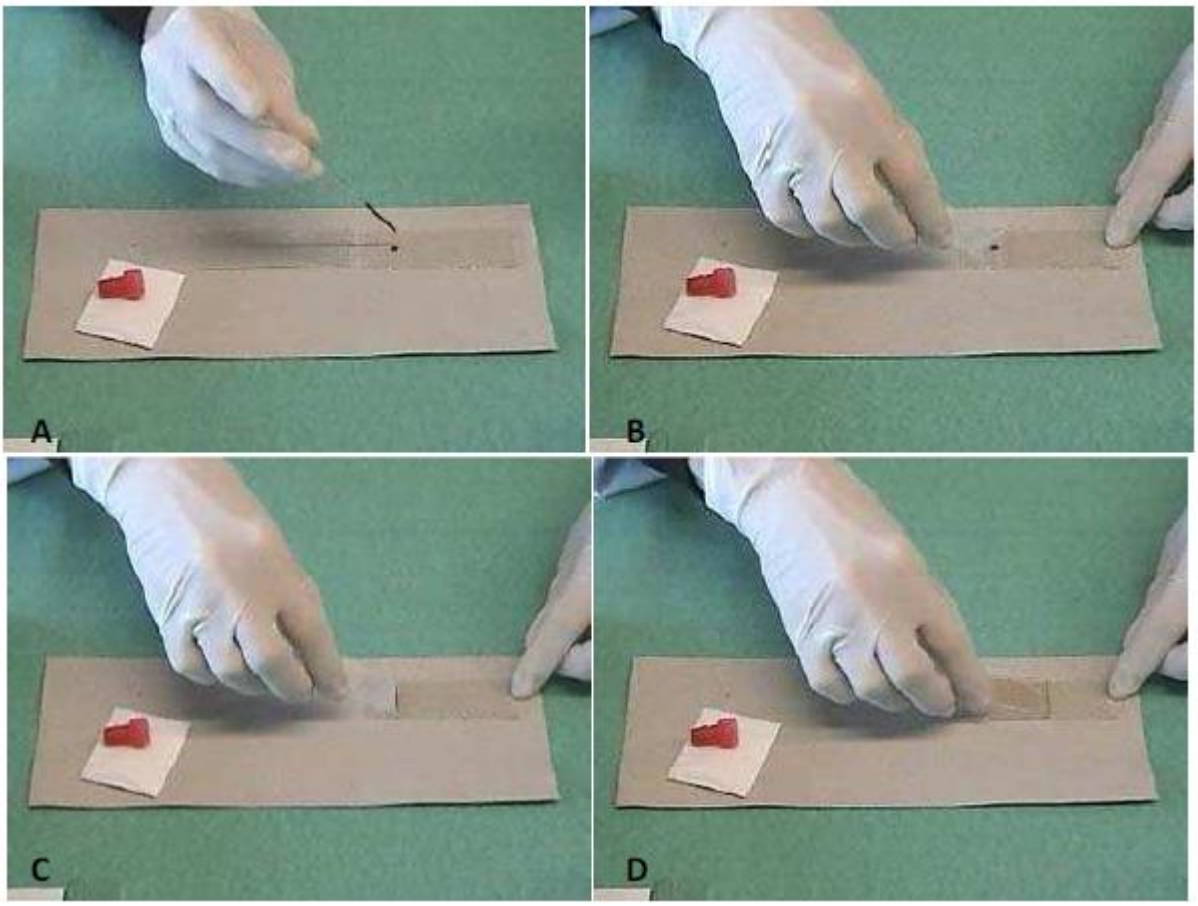
- **Généralités à propos de la réalisation et de la lecture d'un frottis sanguin**

Etalement du frottis sanguin (Cordonnier *et al*., 2014)

La figure 15 ci-dessous illustre la technique classique d'étalement d'un frottis sanguin. La lame mobile doit prendre un angle de 30 à 45° avec la lame fixe. Le séchage s'effectue à l'air libre par une agitation manuelle et rapide de la lame.

Figure 15 – Technique d'étalement pour un frottis sanguin (Cordonnier *et al*., 2014)

(A) Dépôt d'une goutte de sang à l'extrémité de la lame, (B) Etirement de la lame mobile vers l'arrière jusqu'à la goutte, (C) migration du sang par capillarité sur toute la largeur de la lame, (D) Distribution de la goutte en une couche fine par un étalement vers l'avant



Coloration des lames :

La coloration classique utilisée est la coloration de May-Grünwald & Giemsa (aussi appelé MGG). Elle permet, après fixation au méthanol (solvant des colorants) l'action successive de deux colorants neutres, le May Grünwald (éosinate de bleu de méthylène) et le Giemsa (éosinate d'azur de méthylène), dont les ions colorés qu'ils contiennent se fixent sur des structures cellulaires d'affinités complémentaires :

- Les structures cellulaires acidophiles qui fixent l'éosine, leur donnant une coloration orangée à gris rosé, comme les hématies, le cytoplasme des granulocytes ou encore les granulations des éosinophiles
- Les structures basophiles, acides qui fixent le bleu de méthylène, leur donnant une couleur bleue plus ou moins marquée, comme le cytoplasme des lymphocytes
- Les structures azurophiles, qui ont une affinité particulière pour l'azur de méthylène, leur donnant une coloration rouge pourpre, comme les granulations de certains monocytes et de certains lymphocytes appelées granulations métachromatiques
- Les structures neutrophiles, qui fixent à la fois l'éosine et le bleu de méthylène, leur donnant une couleur violette plus ou moins marquée, comme la chromatine des cellules nucléées ou les granulations des neutrophiles (Pochet, 2013).

Techniquement la lame séchée est plongée dans un bain de May-Grünwald pendant 4 minutes, puis transférée dans un bain de Giemsa diluée extemporanément au 1/10^{e} ou 1/20^{e} selon les sources pendant 16 minutes. La lame est ensuite rincée à l'eau neutre ou à l'eau courante selon les sources, et séchée naturellement (Cordonnier *et al*., 2014; Pochet, 2013).

D'autres colorations peuvent être complémentaires à celle-ci, comme le Bleu de Crésyl Brillant qui met en évidence les réticulocytes.

Reconnaître les cellules : (Cordonnier et Fontaine, 2005)

Chez les mammifères, les hématies sont anucléées. Il s'agit des cellules de petite taille (4,5-7 µm de diamètre) discoïdes à centre plus clair en vue de face et en forme de disque biconcave en vue de profil. Chez les carnivores, comme chez les ruminants, la présence d'hémoglobine dans leurs cytoplasmes les rend acidophile, leur conférant une coloration gris rosé en MGG. Les réticulocytes (jeunes hématies) sont plus volumineux que les hématies matures et leur cytoplasme est un peu plus basophile.

De même que les hématies, les plaquettes (ou thrombocytes) sont anucléées chez les mammifères et apparaissent après coloration au MGG comme de petits fragments cytoplasmiques (1,3 à 4,7 µm de diamètre) azurophiles violet-pourpre de différentes formes, le plus souvent regroupés en amas.

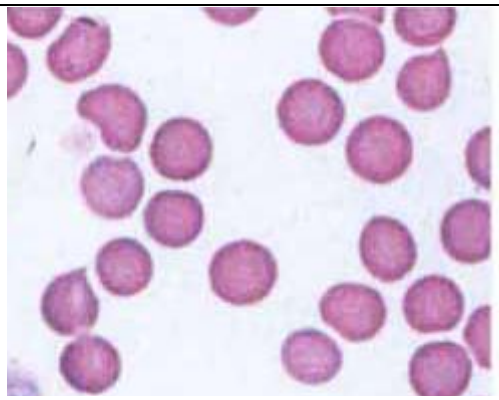
Les cellules de la lignée leucocytaire sont toutes des cellules rondes de grande taille et nucléées. Les granulocytes sont caractérisés par leur noyau plurilobé. Les granulocytes neutrophiles sont caractérisés par leurs granulations neutrophiles apparaissant en violet plus ou moins marqué et leur noyau plurilobé avec des lobes réunis par des ponts souvent très étroits. Les granulocytes neutrophiles immatures présentent un noyau non segmenté en forme de fer à cheval. Les granulocytes éosinophiles sont caractérisés par un noyau généralement bilobé et de nombreuses granulations acidophiles de plus grand diamètre que celle des neutrophiles et se colorant en rouge-orangé en MGG. Les granulocytes basophiles sont les granulocytes les moins nombreux et sont caractérisés par un noyau généralement trilobé et des granulations basophiles variables en taille et en intensité de coloration selon les espèces.

Le monocyte est la plus grande cellule de la lignée leucocytaire (environ 25 µm de diamètre). Il se caractérise par un noyau massif présentant une ou plusieurs encoches profondes et un cytoplasme dit « en ciel d'orage » (aspect gris-bleuté hétérogène) avec la présence fréquente de vacuoles.

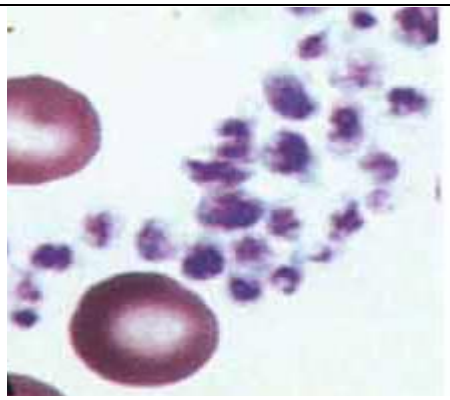
Les lymphocytes sont les plus petites cellules de la lignée leucocytaire (de 6 à 15 µm). Les petits lymphocytes (moins de 9 µm) sont caractérisés par un rapport nucléo-cytoplasmique élevé, le cytoplasme forme une mince couronne autour du noyau circulaire. Les grands lymphocytes ont un rapport nucléo-cytoplasmique plus bas et des granulations azurophiles peuvent être présentes.

La figure 16 ci-dessous illustre les caractéristiques de chaque type cellulaire.

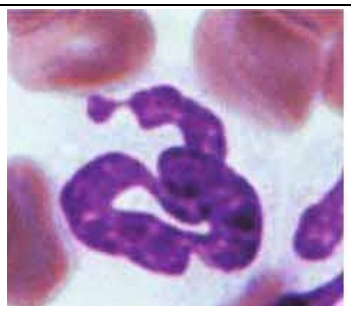
Figure 16 – Grille d'identification des cellules sanguines (Harvey, 2001)



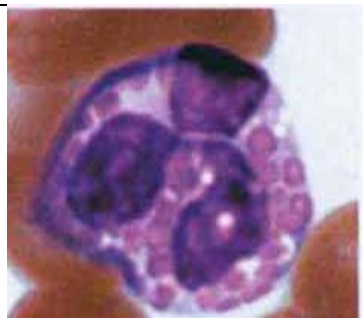
Hématies de chien

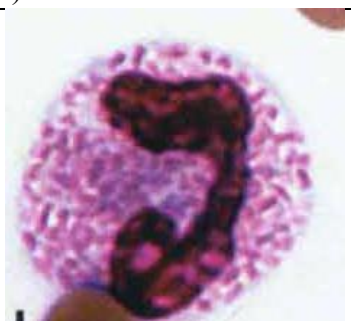


Agrégat thrombocytaire de chien

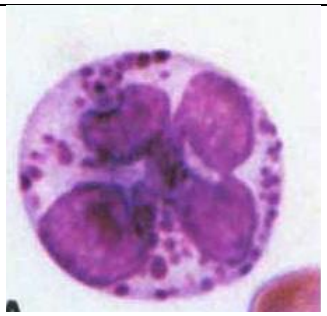


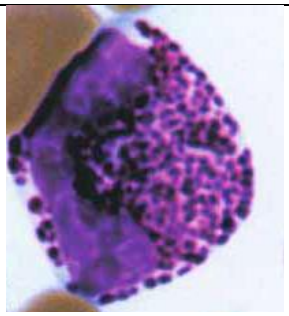
Granulocytes neutrophiles (segmenté de chatte à gauche et non segmenté de chien à droite)



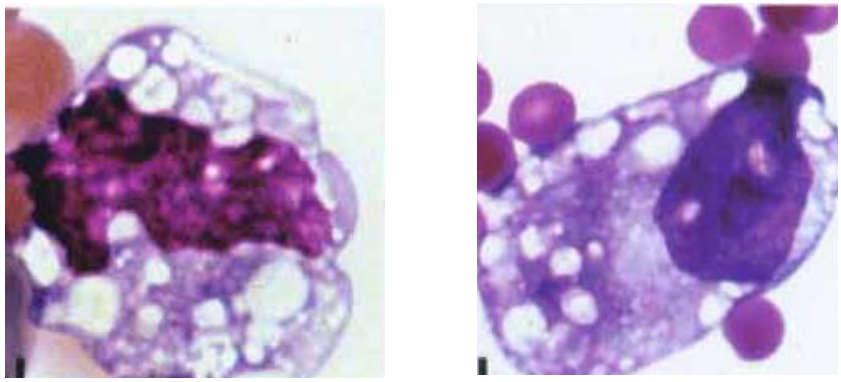


Granulocytes éosinophiles (de chien à gauche, de chat à droite)

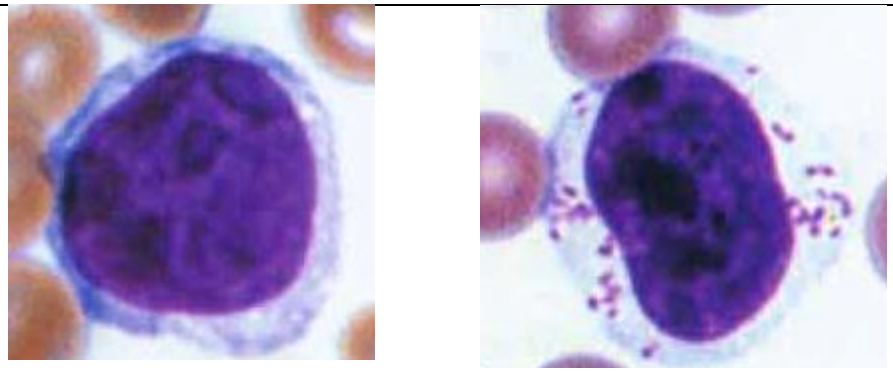




Granulocytes basophiles (de chien à gauche, de cheval à droite)



Monocytes activés (de chien à gauche, de chat à droite)



Lymphocyte (petit lymphocyte à gauche, grand lymphocyte à grains à droite)

Lecture d'un frottis sanguin (Picaut, 2006)

La lecture d'un frottis sanguin s'effectue sous microscope optique, condenseur en position haute. La lame est tout d'abord parcourue au plus faible grossissement (x100) afin de s'assurer de la qualité de l'étalement et de la coloration, et à la recherche d'éléments macroscopiques d'intérêt (parasites, agrégat plaquettaire etc.). Ensuite, la zone de comptage est délimitée : elle doit se situer dans la zone de corps du frottis, sur une zone dite monocouche au niveau de laquelle les hématies sont proches les unes des autres sans se chevaucher afin d'avoir une lecture optimale. Cette zone est d'abord parcourue au grossissement moyen (x400) pour évaluer la forme et la taille des globules rouges, puis au plus fort grossissement (x1000) avec de l'huile à immersion, afin de pouvoir établir la formule leucocytaire et d'évaluer les détails morphologiques des cellules concernées. Le nombre de cellules à compter pour établir la formule leucocytaire varie de 100 à 500 selon les auteurs. Cependant, en pratique la plupart des formules leucocytaires sont établies après dénombrement de 100 leucocytes. Ceci tient à deux explications : tout d'abord, de nombreux auteurs s'accordent pour une répartition hétérogène des différentes populations de cellules le long du frottis. Augmenter le nombre de cellules comptées dans la zone de lecture n'augmenterait donc pas nécessairement la précision. D'autre part, l'avènement des automates pour le comptage cellulaire place le frottis sanguin comme une confirmation des anomalies numériques déjà constatées mais surtout comme l'outil de détection des anomalies morphologiques.

1.3.1.2 La numération formule sanguine de l'alpaga

- **Données expérimentales chez l'Alpaga**

Les données référencées concernant les normes de la numération formule sanguine des petits camélidés sont obtenues à partir d'études réalisées sur des lamas. Si les ouvrages de référence en matière de petits camélidés semblent nous donner accès à ces valeurs, seules deux études majeures ont été réalisées sur des alpagas. La première étude date de 1992 et a porté sur l'étude de 29 animaux âgés de 10 à 18 mois importés du Chili en Australie. La seconde, plus récente qui date de 2011 a porté sur l'étude de 74 animaux adultes provenant de 5 élevages différents aux Etats Unis (Hajduk, 1992). Les données provenant d'études menées exclusivement sur des alpagas sont donc faibles. Le tableau 2 ci-dessous récapitule les résultats des deux études menées sur les alpagas(Dawson *et al*., 2011b).

Tableau 2 – Etude comparative des résultats obtenus par les deux études de numération formule sanguine menée sur des alpagas (Fowler, 2010m)

Paramètres	Valeurs de « référence » (Fowler, 2010m)	(Hajduk, 1992)	(Dawson *et al*., 2011b)
NG (10^6/mm^3)	9,6-17,2	11,2-14,4	9,4-18,1
Taux d'Hb (g/dL)	11,9-19,4	14,4-18,8	10,2-19,3
HCT (%)	27-45	30-42	22-45
VGM (fL)	22,2-29,9	26-31	21-28
TGMH (pg)	10,1-12,7	-	9-12
CCMH (g/dL)	39,3-46,8	Non déterminé Valeurs observées entre 38,2 et 55,7	42-49
NL (10^3/mm^3)	8-21,4	6,0-20,9	7,1-18,6
Neutrophiles (10^3/mm^3)	3,4-15,6	2,0-13,3	3,5-12,1
Lymphocytes (10^3/mm^3)	0,7-5,4	2,1-6,8	1,5-4,7
Monocytes (10^3/mm^3)	0-1,0	0-0,6	0-0,9
Eosinophiles (10^3/mm^3)	0,2-4,5	Mâle : 0-1,9 Femelle : 0-3,0	0,4-4,0
Basophiles (10^3/mm^3)	0,0-3,0	Non recherché	0-0,1
Plaquettes (10^3/mm^3)	200-600	Non recherché	220-947

Les résultats obtenus par les deux études se recoupent et concordent en partie avec les valeurs de référence obtenues sur des lamas. Cependant, des paramètres importants comme la valeur basse acceptée de la numération globulaire, le seuil bas d'hématocrite ou la valeur haute acceptée des numérations leucocytaires restent flous et sont pourtant des éléments essentiels à la lecture d'une numération formule sanguine et à son interprétation.

Ces valeurs de références et les études réalisées sur les lamas peuvent cependant être intéressantes à connaître afin de mener au mieux notre étude sur l'alpaga.

➢ **Données connues chez le lama**

Les valeurs de référence de la numération formule sanguine du lama sont présentées dans le tableau 2 précédent.

Du fait de leur adaptation à la vie en altitude, la formule sanguine est différente de celle que l'on connait chez les carnivores domestiques, les équidés ou les ruminants d'élevage. En ce qui concerne la lignée érythrocytaire, la numération globulaire est plus élevée que chez les autres mammifères domestiques. Le volume globulaire moyen est plus faible chez les petits camélidés. Ceci tient à une adaptation au mode d'alimentation de ces derniers : en effet, les hématies sont ellipsoïdes chez les petits camélidés, ce qui permet de maintenir un bon flux d'hématies dans les capillaires en période de déshydratation, période pendant laquelle la viscosité sanguine augmente (Fowler, 2010m). De plus, le taux en hémoglobine est naturellement plus élevé chez cette espèce que chez les ruminants, à hématocrite semblable. De ce fait, la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine est plus élevée chez le lama que chez les autres espèces. En ce qui concerne les cellules de la lignée blanche, la numération leucocytaire est significativement plus élevée chez les lamas que chez les autres mammifères domestiques avec un ratio neutrophiles-lymphocytes assez élevé, comme chez les équidés (Fowler, 2010m).

Le tableau 3 ci-dessous récapitule les différences majeures de la numération formule sanguine du lama par rapport à celle des autres grandes espèces domestiques

Tableau 3 – Etude comparative des paramètres hématologiques du lama, de la vache et du cheval (Fowler, 2010m)

Paramètres d'intérêt	Cheval	Vache	Lama
Numération globulaire ($x10^6/mm^3$)	6,2-12,5	5-10	9,6-17,2
HCT (%)	32-52	24-46	25-46,5
Taux d'Hb (g/dL)	11-19	8-15	11,9-19,4
VGM (fL)	34-58	40-60	22,2-29,9
TGMH (pg)	12,3-19,7	11-17	10,1-12,7
CCMH (g/dL)	31-37	30-36	39,3-46,8
Numération leucocytaire ($/ mm^3$)	5500-12500	4000-12000	8100-21400
Ratio Neutrophiles – Lymphocytes	1,1	0,48	1,54

1.3.1.3 Les caractéristiques morphométriques des cellules sanguines de l'alpaga

➢ **Données expérimentales chez l'Alpaga**

Quelques données sur la morphométrie des cellules sanguines des petits camélidés sont disponibles dans les ouvrages de référence, mais comme pour celles concernant la numération formule sanguine, celles-ci sont toutes issues d'études réalisées sur des lamas et étendues à l'ensemble des petits camélidés (Fowler, 2010m). Ces données issues d'études réalisées sur alpagas sont donc manquantes.

➢ Données connues chez le lama

Trois principales études ont été réalisées sur la morphométrie des cellules sanguines du lama en 1989, en 1992 et 2007. Parmi celles-ci, la plus récente réalisée en Libye est aussi la plus complète. Le tableau 4 ci-après récapitule les données collectées par celle-ci.

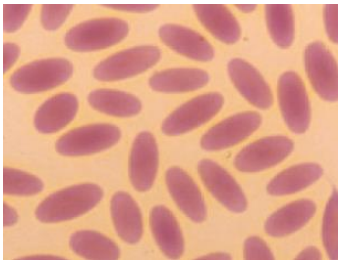
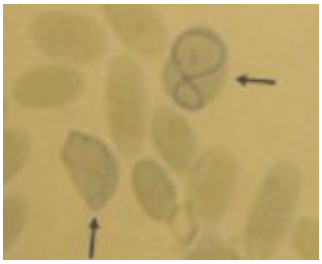
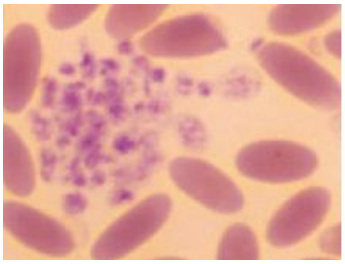
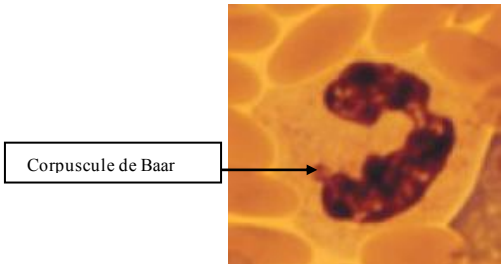
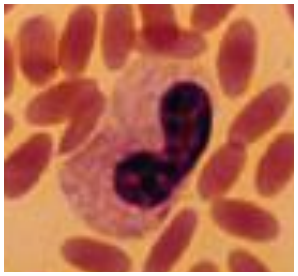
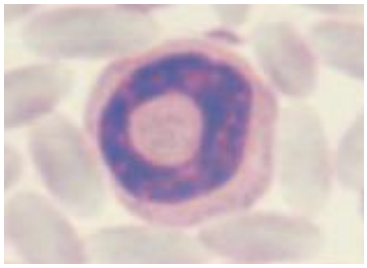
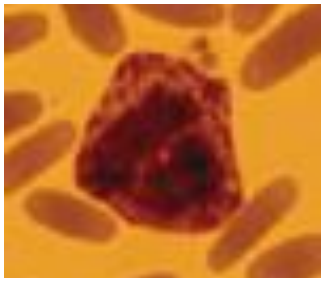
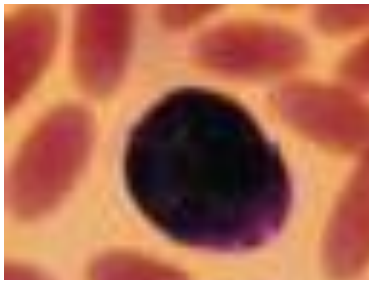
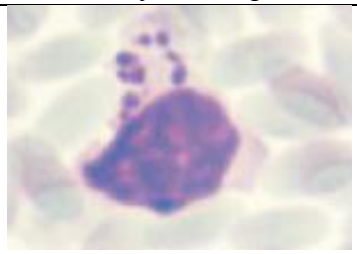
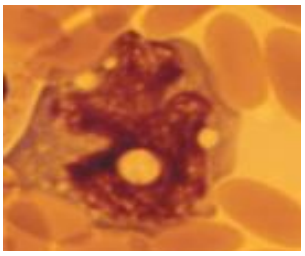
Tableau 4 – Morphométrie des cellules sanguines chez le lama (Azwai *et al*., 2007)

Type cellulaire	Taille	Forme	Forme du noyau	Particularités
Erythrocytes matures	Petite taille	Plate, ellipsoïde, sans pâleur centrale	Absence de noyau	Anneaux de cabot présents dans 2,7% des hématies en coloration Bleu de Crésyl Brillant
Hématies immatures (réticulocytes et stades nucléés)	Plus grand que les érythrocytes matures	Plus arrondi que les érythrocytes matures	Présent pour les stades nucléés Absent chez les réticulocytes	Corps de Howel-Jolly présent dans 6% des cellules immatures nucléés
Plaquettes	Petite taille, diamètre moyen de 2,5 µm	Ronde à irrégulière, cytoplasme rosée avec granulations azurophiles	Absence de noyau	
Granulocytes neutrophiles	Environ 10 µm de diamètre	Circulaire, granulations neutrophiles gris rosée	Noyau distinctement segmenté avec des connections lobaires très fines	- Hypersegmentation du noyau (supérieur à 6 lobes) observée sur jusqu'à 21% des neutrophiles - Corpuscule de Barr présent chez un petit pourcentage de neutrophiles de femelles - Nodules nucléaires mineurs aussi observé chez quelques mâles
Granulocytes éosinophiles	Environ 10 µm de diamètre	Circulaire, granulations de petites tailles, irrégulières de couleur rouge-orangée ne comblant pas entièrement le cytoplasme	Grande proportion de stades jeunes : - 12.5% de stades immatures - 53% de granulocytes jeunes, dont le noyau n'est pas encore complètement segmenté (noyau en fer à cheval) - 28% de granulocytes matures à noyau segmenté bilobé (rarement trilobé) - 6.5% d'éosinophiles avec un noyau en forme d'anneau (aussi appelé en forme de doughnut)	
Granulocytes basophiles	Environ 10µm de diamètre	Circulaire, granulations nombreuses, de petite taille et de couleur violette à bleu nuit	Souvent peu segmenté et partiellement masqué par les granulations	

Petit lymphocyte	Petite taille (jusqu'à 8 µm de diamètre)	Petite cellule ronde, rapport nucléo-cytoplasmique très élevé	Noyau rond, de coloration intense, parfois indenté	Existence d'une sous-population de lymphocytes granulés (jusqu'à 19% des lymphocytes d'une même lame) : de 2 à 20 granulations violacées à bleu nuit de différents formes et tailles. * Sous-population majoritairement représentée par les grands lymphocytes à la hauteur de 77%. *Faible corrélation entre le nombre de granulations et le type de lymphocyte
Lymphocyte moyen	Plus grand que le petit lymphocyte (jusqu'à 9 µm de diamètre)	Cellule ronde, rapport nucléo-cytoplasmique moins important	Noyau rond, de coloration plus claire, chromatine moins dense	
Grand Lymphocyte	Cellule de grande taille (jusque 14 µm de diamètre)	Cellule globalement ronde, rapport nucléo-cytoplasmique faible	Noyau sphérique ou indenté, chromatine fine	
Monocyte	Cellule de grande taille	Cellule de forme ronde à irrégulière, cytoplasme gris-bleuté avec présence de multiples vacuoles cytoplasmiques	Noyau de différentes formes : - Profondément indenté - En forme de fer à cheval - Réniforme	

La figure 17 ci-après illustre les données théoriques décrites précédemment.

Figure 17 – Morphométrie illustrée des cellules sanguines du lama (Azwai *et al*., 2007)

 Hématies	 Présence d'anneaux de Cabot en coloration Bleu de Crésyl Brillant
 Agrégat plaquettaire	 Granulocyte neutrophile
 Granulocyte neutrophile non segmenté	 Granulocyte éosinophile à noyau en forme d'anneau
 Granulocyte basophile	 Petit lymphocyte
 Grand lymphocyte à grains	 Monocyte

Revenons sur quelques éléments cités dans le tableau 4.

Contrairement aux ruminants d'élevage et aux équidés, il est normal de retrouver des réticulocytes ainsi que des stades immatures encore nucléées parmi les éléments cellulaires sanguins circulants chez le lama. De plus, la coloration au Bleu de Crésyl Brillant a permis de mettre en évidence la présence d'anneaux de Cabot dans 1 à 5% des érythrocytes chez tous les lamas de l'étude. Ces structures intracellulaires forment un anneau fin bleuté bordant la membrane cellulaire des hématies ou en une figure fine en forme de 8 occupant la totalité de la cellule, comme figurée dans le tableau 4. La nature réelle de ces figures est cependant controversée. Certains auteurs les considèrent comme l'image de complexes composés d'histones riches en arginines et de fer non-hémique résultant d'une anomalie de la biosynthèse des histones lors d'anémie pernicieuse. D'autres les considèrent comme des artefacts représentant des protéines membranaires dénaturées sans aucune signification diagnostique.

Concernant les particularités liées aux granulocytes, plusieurs points sont importants. Tout d'abord, certains neutrophiles de sujets femelles portent des corpuscules de Baar aussi appelés chromatines sexuelles (comme figurés dans le tableau 4 ci-avant). Ces corpuscules présents chez tous les mammifères domestiques d'intérêt en médecine vétérinaire correspondent à l'image de l'inactivation d'un des chromosomes X. Cependant, l'étude a aussi mis en évidence chez les mâles des nodules mineurs, dont l'explication scientifique n'est pas apportée. Par ailleurs, contrairement aux autres grandes espèces, les noyaux des granulocytes éosinophiles présentent une hyposegmentation plus courante et donc témoignent d'une plus grande part d'éosinophiles jeunes. Cependant, les mécanismes de production par la moelle osseuse ne sont pas connus (Azwai *et al*., 2007).

1.3.2 A propos des paramètres biochimiques

1.3.2.1 Bases en biochimie clinique

La biochimie sanguine est le domaine d'étude concerné par l'analyse et la quantification de molécules transportées par le sang. Plus précisément, ces molécules sont transportées par le plasma, fraction liquide et non cellulaire du sang, de leur lieu de production ou d'absorption vers leur lieu d'utilisation ou d'excrétion. L'interprétation des résultats doit tenir compte de ces considérations. La première chose à considérer est la raison de la présence de cette molécule dans le sang : est-ce une molécule qui s'y trouve de manière permanente (albumine, électrolytes) ? Est-ce une molécule en transit vers un lieu d'utilisation (glucose, hormone) ? Est-ce un déchet de l'organisme en voie d'excrétion (urée, bilirubine, créatinine) ? Est-ce une molécule qui s'est accidentellement déversée dans le torrent sanguin (enzymes pancréatiques..) ? Ensuite, les mécanismes de contrôle de ces molécules sont à connaître afin de pouvoir au mieux interpréter des variations.

La détermination de paramètres biochimiques peut s'effectuer après prélèvement sur deux types de tubes. L'utilisation d'un tube sec ou tube sec gélosé à bouchon rouge donne des résultats de biochimie sérique, le sérum étant une entité artificielle. L'utilisation d'un tube avec héparinate de lithium (à bouchon vert pour les grands tubes ou à bouchon orange pour les petits tubes) donne des résultats de biochimie plasmatique, le plasma étant l'entité circulante. Certains tests requièrent spécifiquement de travailler sur du sérum comme les acides biliaires, l'insuline ou les analyses sérologiques. Aucun test ne requière spécifiquement par ailleurs de travailler sur du plasma. Quel que soit le choix du support, il faut en tenir compte dans l'expression des résultats et parler de concentrations sériques ou de concentrations plasmatiques du paramètre analysé.

Une fois l'échantillon récolté dans le tube choisi, une centrifugation doit être réalisée afin de récupérer le plasma ou le sérum qui sera analysé. L'utilisation d'un tube gélosé facilite la séparation entre le culot cellulaire et le surnageant et évite la ré-homogénéisation des deux parties lors d'analyse sur le sérum (Kerr, 2002).

1.3.2.2 Données connues sur la biochimie standard de l'alpaga et sélection de quelques paramètres

- **Sélection de 6 paramètres biochimiques d'intérêt chez l'Alpaga**

L'étude des paramètres biochimiques de l'alpaga se limitera à celle de 6 paramètres d'intérêt : la glycémie, l'urémie, la créatininémie, l'activité des ASAT (Aspartate aminotransférase), des CK (Créatine kinase) et des GGT (Gamma – glutamyltransférase). Ces 6 paramètres sont particulièrement intéressants compte tenu des données déjà connues ou des prédispositions de l'espèce à des maladies les impliquant.

Comme déjà vu dans la partie 1.2.2.2 – sous partie « Désordres métaboliques des glucides et des lipides », l'alpaga possède un métabolisme glucidique particulier impliquant une glycémie élevée comparée à celle des ruminants vrais et comparable à celle des monogastriques, et une résistance modérée à l'insuline. Le dosage de la glycémie peut donc être particulièrement intéressant chez cette espèce prédisposée aux hyperglycémies de stress et aux hypoglycémies chez le nouveau-né atteint de diarrhées néonatales.

Par ailleurs, le métabolisme énergétique de cette espèce la prédispose aussi aux atteintes hépatiques par surcharge en dépôts graisseux (stéatose hépatique) pouvant à long terme avoir des conséquences graves sur le fonctionnement du foie. Dans ce cadre, le dosage de plusieurs paramètres hépatiques peut s'avérer intéressant. Tout d'abord, il est à noter que chez les ruminants vrais, le dosage des PAL (phosphatases alcalines) et les ALAT (Alanine Aminotransférase) est de faible intérêt diagnostic. En effet, l'activité des PAL est très difficile à interpréter car les valeurs sériques sont très dispersées chez l'animal sain, avec une augmentation notable en croissance et en lactation. De plus, l'activité des ALAT est de faible utilité car cette enzyme est peu active dans le foie des bovins (Achard, 2005). Aucune étude n'a été réalisée concernant la pertinence de ces paramètres chez les petits camélidés, cependant par extrapolation, ils ne font pas partie des paramètres d'intérêt diagnostic pour les hépatopathies (Tornquist, 2009),(Achard, 2005). Il est plus intéressant pour explorer des problèmes hépatiques d'utiliser des marqueurs de la cytolyse hépatocytaire comme l'activité des ASAT qui est un bon marqueur d'hépatite aigüe, des marqueurs de la cholestase comme l'activité des GGT, qui est un bon marqueur d'hépatite chronique par ailleurs, ainsi que des marqueurs de dysfonctionnement hépatique comme l'urée, dont la valeur chute lors d'insuffisance hépatique grave. Les GGT sont assez sensibles et spécifiques du foie, contrairement aux ASAT qui sont peu spécifiques et se distribuent aussi dans les muscles et le cœur (Achard, 2005). Il est donc intéressant de lire les valeurs des ASAT en parallèle avec celle des CK, marqueurs de souffrance cellulaire musculaire, cardiaque et cérébrale (Tornquist, 2009).

Enfin, comme déjà vu dans la partie 1.2.2.2., les atteintes du parenchyme rénal primaires sont rares chez les petits camélidés, cependant elles sont des complications fréquentes qu'il faut savoir déceler pour les prendre au mieux en charge. C'est donc dans ce cadre que le dosage de l'urée et de la créatinine peut s'avérer intéressant chez l'alpaga.

➢ Données expérimentales connues

Plusieurs études ont été réalisées afin de déterminer des valeurs biochimiques sériques de référence sur des alpagas et des lamas adultes. Nous nous intéresserons dans cette partie aux six paramètres définis précédemment.

Selon les auteurs, certains s'accordent pour une uniformité des résultats pour ces paramètres, alors que les autres estiment que deux grilles de valeurs de référence sont nécessaires.

Tableau 5 – Etude comparative des résultats obtenus dans les différentes études et publications pour les paramètres biochimiques d'intérêt chez le lama et l'alpaga

	(Lassen *et al*., 1986)	(Fowler et Zinkl, 1989)	*Oouvrage de référence* (Fowler, 2010m)	(Simons *et al*., 1993)	(Dawson *et al*., 2011a)
Type d'animaux	26 mâles et 38 femelles lamas considérés sains	83 lamas adultes des deux sexes, considérés sains	Aucune référence bibliographique	352 femelles alpagas (205 gravides, 68 vides, 79 de statut inconnu)	74 alpagas adultes sains (46 mâles et 28 femelles)
Glycémie (g/L)	0,97-1,53	0,74-1,54	0,74-1.54	Non déterminé	1,02-1,49
Urée (g/L)	0,27-0,33	0,09-0,34	0,09 – 0,34	0,14-0,35	0,1-0,3
Créatinine (mg/dL)	1,9-2,7	1,4-3,2	1,4-3.2	1,4-3,2	1,0-2,4
ASAT (UI/L)	82-138	166-447	127-420	65-202	128-308
CK (UI/L)	Non déterminé	8-77	14-238	29-120	9-451
GGT (UI/L)	15-25	9-29	3-28	11-38	8-35

Aucune de ces études n'a été réalisée en Europe.

L'étude de la glycémie montre dans les 5 publications que celle-ci est plus élevée chez les petits camélidés que chez les ruminants, chez qui la glycémie oscille entre 0,45 et 0,75 g/L (Fowler, 2010m). Cependant, il existe une variabilité dans les résultats concernant la valeur basse tolérée, qu'il est important de connaître afin de savoir si oui ou non l'animal est hypoglycémique et donc si il faut ou non le complémenter.

L'étude comparative des différents résultats pour les paramètres rénaux montre une adéquation globale des résultats avec cependant des variabilités sur la valeur basse tolérée pour l'urée et sur les deux valeurs seuils pour la créatinine. Globalement, les résultats obtenus ne montrent pas de grande différence avec les valeurs connues chez les autres espèces d'élevage.

L'étude comparative des différents résultats pour les paramètres d'exploration hépatique montre au contraire une assez grande disparité des résultats, hormis pour les GGT pour lesquels les valeurs sont plus groupées.

Si les résultats semblent donc s'accorder pour la glycémie, l'urée et la créatinine chez le lama et l'alpaga, les valeurs de référence pour les ASAT, CK et GGT sont très disparates selon l'étude considérée.

1.3.2.3 Facteurs de variabilités des valeurs biochimiques chez les petits camélidés

Plusieurs études ont permis de définir certains facteurs de variabilité des paramètres biochimiques chez les petits camélidés. Nous n'aborderons ici que les variations des paramètres définies précédemment.

Tout d'abord, la question de l'influence du sexe sur les valeurs biochimiques peut se poser. En effet, une étude menée chez le lama a montré en 1993, une augmentation de l'activité des GGT chez les mâles par rapport aux femelles. Cependant, une différence de moyenne à priori significative était notée sur plusieurs paramètres de l'étude entre mâle et femelle, mais l'auteur signale un doute sur la pertinence clinique et physiologique de ces résultats (Lassen *et al*., 1986). Une seconde étude de 2011 sur l'alpaga a montré des différences significatives sur d'autres paramètres (fructosamine, ions, gammaglobulines) mais a conclu à une difficulté d'interprétation clinique et physiologique pour ces résultats (Dawson *et al*., 2011a).

Ensuite, l'influence de la gestation est étudiée dans deux études. La première étude de 1993 menée sur des femelles alpagas compare le statut « gestant » et « non gestant », comme variable binaire, sans mention du stade de gestation. Aucune différence significative sur les paramètres biochimiques d'intérêt n'y est mis en évidence (Simons *et al*., 1993). Une seconde étude de 2003, menée sur 42 femelles alpagas cherche à montrer des variations biochimiques dans les 3 mois précédant et suivant le part. Des variations notables de la glycémie, de l'urée et de la créatinine y sont mises en évidence. Une augmentation significative de la glycémie de 1,19g/L à 2,3g/L a lieu entre les 20 jours précédents la mise bas et le jour de la mise bas. Ce résultat est contradictoire avec les études menées chez les ruminants qui concluent à une diminution du glucose circulant pendant la gestation, due à un détournement du flux glucosé vers le placenta et l'utérus, malgré une augmentation de la production de glucose et une diminution de l'utilisation par les tissus maternels. Cependant, la période autour de la mise-bas est riche en modifications hormonales (glucocorticoïdes, œstradiol, hormone de croissance), ce qui peut influer sur les hormones de régulation de la glycémie et ainsi expliquer les résultats obtenus. Des variations notables de l'urée et de la créatinine sont aussi observables autour de la mise-bas. En effet, une diminution significative de l'urée et de la créatinine est constatée à partir du jour de la mise bas, avec une ré-augmentation progressive à partir de 15 jours après le part (Burton *et al*., 2003).

Enfin, une étude plus originale a comparé la tolérance au stress thermique chez les animaux tondus et non tondus et a mis en évidence une corrélation négative entre l'urée et les paramètres d'ambiance (température journalière minimale et maximale et indice thermique). L'auteur l'explique par une diminution de la prise alimentaire en cas de stress thermique, induisant une diminution de la production d'ammoniac dans le rumen et donc une tendance à l'acidose ruminale, compensée par une augmentation de l'excrétion salivaire d'urée et donc une diminution de l'urémie. Ainsi, il semble pertinent de tenir compte du statut tondu ou non tondu de l'animal et des paramètres d'environnement pour interpréter la valeur de l'urémie (Heath *et al*., 2001).

Ainsi, concernant les valeurs de références biochimiques chez l'alpaga, peu d'études ont été réalisées et certaines données sont manquantes. Quoi qu'il en soit, il est nécessaire de tenir compte des variabilités liées au statut physiologique de l'animal pour l'interprétation des résultats.

1.3.3 De l'intérêt de la création d'une base de données hématologique et biochimique de référence pour l'alpaga

L'objet de la seconde partie de cette thèse sera de créer une nouvelle base de données de référence hématologique et biochimique pour l'alpaga, qui servira en premier lieu à l'Ecole Nationale Vétérinaire d' Alfort.

L'intérêt de cette dernière passe d'abord par un manque accru d'informations disponibles sur ces données chez l'alpaga. En effet, l'étude comparative des résultats apportés par le peu d'études réalisées sur le sujet ne conclue pas à un consensus de valeurs de référence. Plusieurs des publications extrapolent les résultats observés chez les lamas aux alpagas, mais cette extrapolation fait débat parmi les auteurs. On ne peut donc pas la considérer comme admise. De plus, toutes ces études ont été menées sur des territoires extra-européens. Aucune norme n'existe donc pour les alpagas élevés sur le territoire français. Il est en effet raisonnable de penser que la qualité de l'alimentation et les conditions d'élevage sont en France différente de celles des pays d'études et pourraient influer sur les résultats observés.

La population d'alpagas étant en essor en France, que ce soit pour la compagnie ou la fibre textile, les vétérinaires sont de plus en plus confrontés à ces animaux. La création d'une base de données française pourrait donc être une aide quotidienne au diagnostic simple d'accès.

DEUXIEME PARTIE :

ETUDE EXPERIMENTALE

2.1 – Matériel et Méthodes

2.1.1 – Recrutement des individus

2.1.1.1 – Contraintes liées aux objectifs de l'étude

Cette étude a été mise en place dans le cadre à une collaboration entre le laboratoire de biochimie de l'ENVA, celui d'hématologie et le service de Pathologie des Animaux de Production, afin de créer un outil permettant une meilleure interprétation des analyses hématologiques et biochimiques chez l'alpaga face à la fréquence croissante d'hospitalisation de ces animaux à l'ENVA. Toutes les analyses biochimiques et la numération formule sanguine ont été réalisées par le personnel habituel de l'ENVA, avec l'analyseur automatisé du laboratoire de l'ENVA selon les protocoles habituellement utilisés. Les colorations et analyses de frottis sanguin ont été réalisées par mes soins, sous la direction du personnel habituel du laboratoire d'hématologie. De ce fait, les prélèvements sanguins utilisés devaient nécessairement être rapportés et pris en charge à l'ENVA dans la journée, ce qui a largement restreint les zones géographiques d'élevage et le nombre d'animaux pouvant être inclus dans l'étude. Un maximum d'animaux différents a donc été prélevé lors de chaque séance.

2.1.1.2 Critères d'inclusion et d'exclusion des individus

Du fait des contraintes liées aux objectifs de l'étude, celle-ci a été réalisée sur les animaux de l'élevage du Fontenelle de Mr Fréderic HENRY, situé à Noisy-sur-Oise (95, Ile de France), principal éleveur amenant des animaux malades en hospitalisation au service de pathologie du Bétail de l'ENVA.

La population de référence visée est une population d'alpagas adultes vivant en France, mâle ou femelle, en bon état général, correctement vacciné et vermifugé, non gestante ou gestante de moins de sept mois ou en lactation depuis plus de deux mois pour les femelles.

La sélection des animaux de cet élevage a principalement été faite par exclusion des animaux ne faisant pas partie de la population de référence. Ont été exclus de l'étude :

- les animaux de moins de 2 ans ou de plus de 12 ans : l'âge minimal a arbitrairement été déterminé comme la moyenne de la maturité sexuelle de la femelle et celle du mâle. L'espérance de vie d'un alpaga étant d'une vingtaine d'années, l'âge maximal a été déterminé arbitrairement pour s'assurer de ne pas prélever d'animaux trop âgés, ce qui pourrait influencer les paramètres hématologiques et biochimiques.
- les femelles gestantes depuis plus de 7 mois ou en lactation depuis moins de 2 mois : pour limiter l'impact des modifications principalement biochimiques autour du part, comme vu dans la partie 1.3.2.3 précédemment.
- les animaux non vaccinés (rage, tétanos, entérotoxémie)
- les animaux ne suivant pas un protocole de vermifugation régulier
- les animaux en cours de traitement médical
- les femelles ayant avorté
- les animaux dont l'examen clinique présentait des anomalies le jour du prélèvement
- les animaux dont la contention n'était pas possible

2.1.1.3 – Déroulement d'une séance de prélèvements

Avant chaque séance de prélèvement, un contact a été pris avec l'éleveur afin qu'il sélectionne les animaux pouvant entrer dans l'étude. Les séances de prélèvement se sont toutes déroulées en compagnie du Dr Belbis, sur le site de l'élevage le matin entre 8h et 12h afin que les échantillons puissent être pris en charge dès 14h par les différents services.

Pour chaque animal susceptible d'entrer dans l'étude, un questionnaire a été soumis à l'éleveur, reprenant les différents items d'exclusion et suivant le cours de la fiche ci-dessous. Les items colorés en bleu représentent les différentes causes probables d'exclusion de l'étude. Ceci permet une double sécurité avec une sélection préalable de l'éleveur et une vérification des informations le jour du prélèvement.

Ce questionnaire à l'éleveur a été suivi d'un examen clinique de l'animal passant par une lecture de la puce, un examen général à distance, un examen de la fonction cardiaque, respiratoire et digestive ainsi qu'une prise de température, toute anomalie de cet examen s'avérant être un critère d'exclusion immédiate. Cet examen clinique a été réalisé parmi les congénères de l'animal, la contention étant assurée par de l'éleveur lui-même, afin de minimiser le stress.

Tableau 6 – Fiche utilisée comme guide pour le recrutement des individus dans l'étude

Fiche n°__
INFORMATIONS SUR L'ANIMAL : - Elevage : _____ - N° identification : _____ - Sexe : ____ **Âge : ____** **- Pour les femelles, gestation en cours ? Mois de gestation ?_____** - Animal tondu ou non tondu ? _____
SUIVI CLINIQUE : **- Dernière vaccination ?_____** **- Dernière vermifugation ?_____**
ANTECEDENTS CLINIQUES : - Antécédents pathologiques :_____ **- Traitements en cours : _____** **- Pour les femelles, a-t-elle déjà avorté ? _____**
EXAMEN CLINIQUE : **- Conclusion de l'examen clinique: _____** **- Etat général : _____**

**En gras, tous les items pouvant être une cause d'exclusion de l'étude*

Pour chaque animal ne présentant aucun des critères d'exclusion, une fiche comme celle-ci-dessus a été remplie précisément et le numéro de la fiche a été attribué comme numéro d'étude à l'animal.

Ensuite, pour chaque animal inclus, un tube sec gélosé et un tube EDTA ont été prélevés à la jugulaire par ponction basse, indépendamment à droite ou à gauche par le Dr Belbis. Certains animaux, dont la contention était impossible, ont été exclus de l'étude à cette étape.

Tous les échantillons ont été identifiés par le numéro d'étude des animaux et ont été conservés au frais dans une glacière munie de pains de glace, jusqu'au retour à l'ENVA. Par conséquent, le délai entre le prélèvement et l'analyse ne dépassait pas 3 à 4h, les échantillons étant maintenus pendant cette période sous couvert du froid positif.

2.1.2 – Traitement des prélèvements sanguins

Dès leur arrivée à l'ENVA, les échantillons ont été conservés pendant 2h au réfrigérateur du service de pathologie des animaux de production, puis amenés aux services appropriées dès 14h pour prise en charge.

2.1.2.1 Prise en charge des tubes secs gélosés pour la réalisation des analyses biochimiques

Les tubes secs gélosés ont été pris en charge par le laboratoire de biochimie de l'ENVA. Les échantillons ont d'abord été centrifugés pendant 10 minutes à 3000G. Ensuite, soit les échantillons étaient immédiatement analysés, soit ils étaient congelés pour analyse ultérieure en fonction des disponibilités du laboratoire. Les variables biochimiques testées sont celles définies précédemment dans la partie bibliographique de cette thèse, à savoir :

- La glycémie
- L'urémie
- La créatininémie
- L'activité des ASAT
- L'activité des GGT
- L'activité des CK

L'analyse a été réalisée par l'automate d'analyse biochimique du laboratoire de l'ENVA : c'est un analyseur de la marque Vital Scientific, modèle Selectra XL Vitalab.

2.1.2.2 Prise en charge des tubes EDTA pour la réalisation des NFS

Les tubes EDTA ont été pris en charge par le laboratoire d'hématologie de l'ENVA, avec l'aide et sous la surveillance du Dr Lagrange. Chaque échantillon devait être analysé en vue de la numération formule sanguine et par la réalisation de frottis sanguins.

Les numérations-formules sanguines ont été réalisées par mes soins avec l'analyseur hématologique automatisé du laboratoire d'hématologie de l'ENVA, que l'on voit sur la photographie 13 ci-après. C'est un analyseur de la marque Sysmex, modèle XT-2000iV, particulièrement adapté à des analyses multi-espèces, avec 10 espèces préprogrammées (dont l'alpaga ne fait pas partie) mais surtout la possibilité de spécifier 20 espèces de plus (« XT-Veterinary-Hematology-Analyzer », 2015). Toutes les analyses réalisées dans cette étude l'ont été sous le mode « chèvre 6 » réservé par le laboratoire pour les prélèvements sanguins d'alpagas.

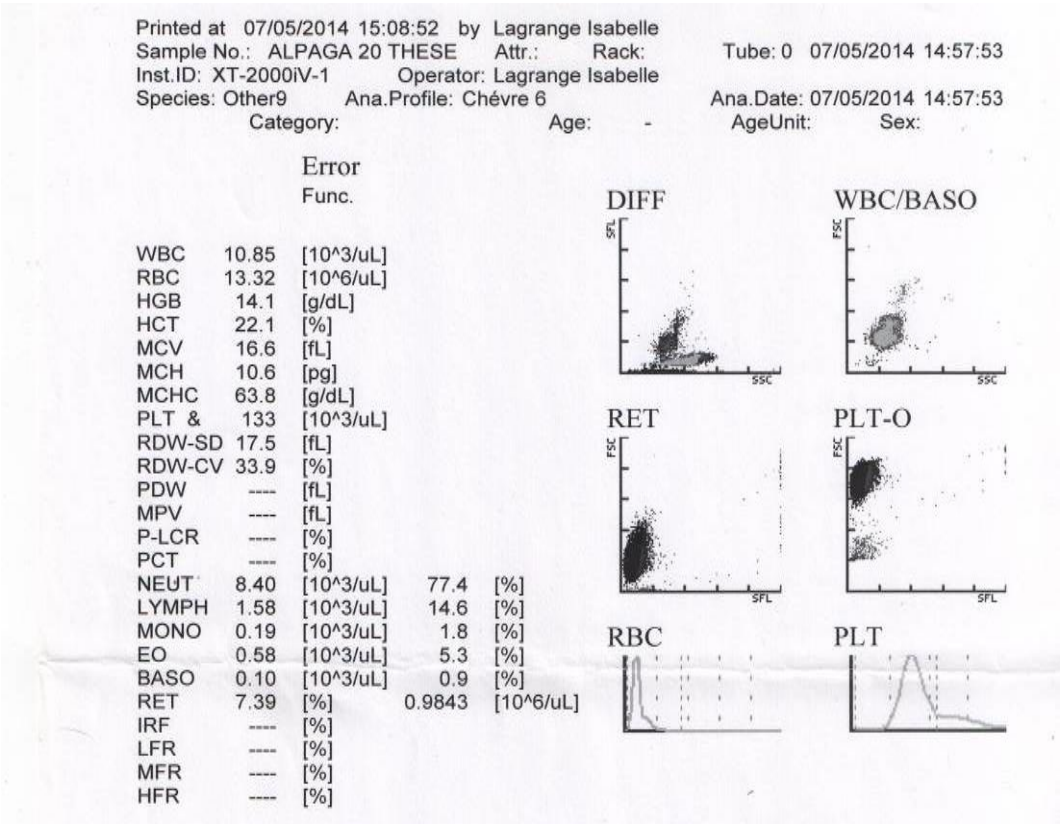
Des hématocrites ont été réalisés manuellement sur tous les prélèvements à l'aide de tubes à microhématocrites. Chaque tube a été mis à centrifuger au laboratoire pendant 5 minutes à 11000 tours/minutes, puis l'hématocrite correspondant a été lu par mes soins à l'aide d'une réglette adaptée.

Photographie 13 – Analyseur automatique du laboratoire d'hématologie de l'ENVA

(Source : personnelle)

La figure 18 ci- après est un exemple de résultat donné par l'automate.

Figure 18 - Exemple de résultat de numération-formule sanguine donné par l'automate Sysmex XT-2000iV



Printed at 07/05/2014 15:08:52 by Lagrange Isabelle
Sample No.: ALPAGA 20 THESE Attr.: Rack: Tube: 0 07/05/2014 14:57:53
Inst.ID: XT-2000iV-1 Operator: Lagrange Isabelle
Species: Other9 Ana.Profile: Chévre 6 Ana.Date: 07/05/2014 14:57:53
Category: Age: - AgeUnit: Sex:

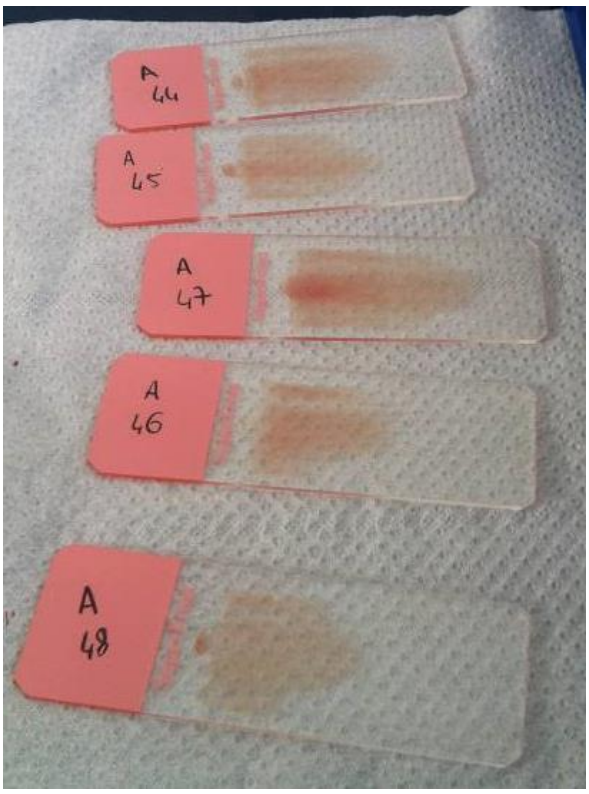
		Error Func.		
WBC	10.85	[10^3/uL]		
RBC	13.32	[10^6/uL]		
HGB	14.1	[g/dL]		
HCT	22.1	[%]		
MCV	16.6	[fL]		
MCH	10.6	[pg]		
MCHC	63.8	[g/dL]		
PLT &	133	[10^3/uL]		
RDW-SD	17.5	[fL]		
RDW-CV	33.9	[%]		
PDW	----	[fL]		
MPV	----	[fL]		
P-LCR	----	[%]		
PCT	----	[%]		
NEUT	8.40	[10^3/uL]	77.4	[%]
LYMPH	1.58	[10^3/uL]	14.6	[%]
MONO	0.19	[10^3/uL]	1.8	[%]
EO	0.58	[10^3/uL]	5.3	[%]
BASO	0.10	[10^3/uL]	0.9	[%]
RET	7.39	[%]	0.9843	[10^6/uL]
IRF	----	[%]		
LFR	----	[%]		
MFR	----	[%]		
HFR	----	[%]		

2.1.2.3 Prise en charge des tubes EDTA pour la réalisation des frottis sanguins

Une fois, les numérations-formules sanguines effectuées, le sang restant dans chaque tube était destiné à la réalisation des frottis sanguins, le but étant de réaliser des frottis avec deux colorations différentes : une coloration de May-Grünwald et Giemsa pour une observation globale des cellules et plus précisément des leucocytes et une coloration au bleu de Crésyl Brillant pour une observation plus ciblée des hématies et des réticulocytes. J'ai procédé d'abord à l'étalement d'une lame de frottis par échantillon. Quelques lames de frottis sanguins avant coloration sont visibles sur la photographie 14 ci-dessous.

Photographie 14 – Frottis sanguins d'alpagas après étalement et sans coloration

(Source : personnelle)



Le Dr Lagrange a pris en charge les colorations au MGG selon ses disponibilités (dans les quelques jours suivant l'étalement au maximum). Toutes les colorations au Bleu de Crésyl Brillant ainsi que l'étalement des frottis correspondants ont été réalisés ensuite par mes soins le jour des prélèvements.

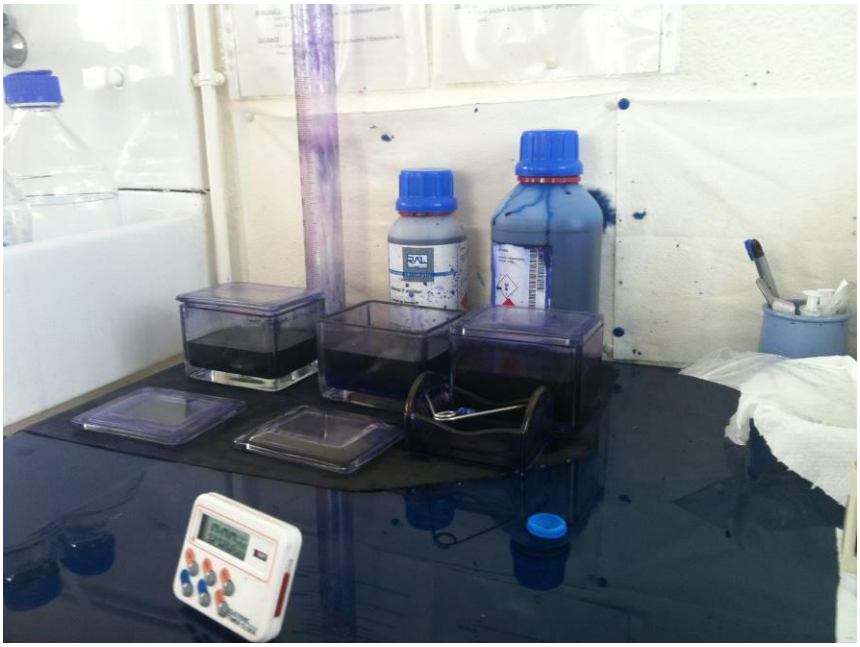
- **Technique de coloration MGG**

Les colorations de May-Grünwald et Giemsa (MGG) ont été réalisées selon le protocole habituel utilisé au laboratoire d'hématologie, qui suit les recommandations du laboratoire RAL Diagnostics, laboratoire de référence en matière de coloration biologique.

Après séchage à l'air libre et disposition sur un porte-lame, les lames sont d'abord plongées dans le colorant de May-Grünwald pendant 3 minutes. Puis un premier rinçage en deux temps est effectué : d'abord, les lames sont immergées dans un bain d'eau distillé pendant 2 minutes, puis dans un second bain d'eau distillé en agitant légèrement le porte-lame. Ensuite, les lames sont plongées pendant 10 minutes dans une solution de Giemsa préparé extemporanément chaque jour (20 mL de Giemsa rapide pour 180 mL d'eau distillée, soit une dilution au 1/10ème). Enfin, le dernier rinçage est réalisé en deux temps comme le premier. Le séchage s'effectue ensuite à l'air libre en maintenant les lames verticalement pour favoriser l'écoulement de l'eau. Le matériel de coloration de MGG du laboratoire d'hématologie de l'ENVA est illustré par la photographie 15-ci-dessous.

Photographie 15 – Matériel utilisé pour la coloration des lames par la technique de MGG

(Source : personnelle)



- **Technique de coloration au Bleu de Crésyl Brillant**

Les colorations au Bleu de Crésyl Brillant ont été réalisées selon le protocole habituel utilisé au laboratoire d'hématologie, qui adapte les recommandations du laboratoire RAL Diagnostics en fonction du matériel disponible à l'ENVA.

Dans un tube à centrifuger en plastique de 1,5 mL, sont mélangés 60 µL de sang total (recueilli sur le tube EDTA) et 60 µL de Bleu de Crésyl Brillant. Ensuite, le mélange repose 30 minutes à température ambiante, puis une goutte de ce mélange est étalée sur une lame comme un frottis et séchée par agitation à l'air libre. Le Laboratoire RAL Diagnostic recommande une incubation de 15 minutes à 37°C au bain-marie, mais le Dr. Lagrange ne dispose pas du matériel nécessaire pour réaliser cette étape conformément aux recommandations et il est important que les prélèvements soient traités avec les habitudes du laboratoire.

- **Lecture des frottis : Méthode et caractéristiques cellulaires relevées**

La lecture des frottis a été réalisée avec le microscope habituel du service d'hématologie. Le frottis a d'abord été examiné au faible grossissement (x100) dans sa totalité, pour vérifier la qualité de l'étalement, de la coloration et l'absence d'éléments macroscopiques anormaux. La zone de lecture est choisie selon les critères suivants : zone monocouche où les globules rouges se touchent sans se superposer. Les objectifs à immersion x50 et x100 ont été utilisés, le premier pour une lecture globale, le second principalement pour affiner la description des caractéristiques cellulaires observées.

Lecture des frottis en coloration MGG :

La lecture des frottis en coloration MGG a permis l'observation de la morphologie des globules rouges, mais aussi des leucocytes. La formule leucocytaire manuelle a été établie : elle consiste en un comptage de 100 leucocytes différents en balayant la zone de lecture. Ce comptage a surtout été l'occasion d'analyser la morphologie de chaque type cellulaire observé. Pour chaque cellule observée et comptée, ses caractéristiques cellulaires ont été relevées. Le tableau 7 ci-dessous récapitule pour chaque type cellulaire les caractéristiques cellulaires recherchées.

Tableau 7 – Caractéristiques cellulaires leucocytaires recherchées lors de l'observation des lames colorées au M.G.G.

Granulocytes neutrophiles	Forme du noyau, hypersegmentation du noyau (≥ 6 lobes), Corpuscules de Baar, nodules mineurs, caractéristiques du cytoplasme
Granulocytes éosinophiles	Forme du noyau (bilobé, trilobé, en forme de couronne etc..), caractéristiques du cytoplasme et des granules
Granulocytes basophiles	Forme du noyau, caractéristiques du cytoplasme et des granules
Monocytes	Forme de la cellule, forme du noyau, présence de vacuoles cytoplasmiques, caractéristique du cytoplasme
Lymphocytes	Type de lymphocytes (petit, moyen, grand), forme du noyau, présences de granules dans le cytoplasme, caractéristiques du cytoplasme

Lecture des frottis en coloration Bleu de Crésyl Brillant :

En coloration Bleu de Crésyl Brillant, sont sujets à observation uniquement les érythrocytes et leurs formes immatures, à savoir les réticulocytes. Un comptage de 1000 hématies ou apparentées a été réalisé sur chaque lame avec dénombrement des réticulocytes. Ceci a permis d'une part d'établir manuellement un pourcentage de réticulocytes, et d'autre part et surtout l'observation minutieuse de chaque cellule comptée : forme des hématies, caractéristiques cytoplasmiques, recherche d'anneaux de Cabot, forme et caractéristiques cytoplasmiques des cellules identifiées comme des réticulocytes.

Ainsi, toutes ces analyses ont conduit à l'obtention de résultats bruts à traiter pour atteindre l'objectif de l'étude.

2.1.3 – Méthode d'analyse des résultats bruts obtenus

2.1.3.1 – Bases théoriques de la détermination d'intervalles de référence

Il existe trois méthodes principales de détermination d'intervalles de référence *de novo*, c'est-à-dire de manière prospective, par recrutement d'un échantillon de référence pour une population de référence donnée et par mesure des variables étudiées au sein de l'échantillon de référence :

- La méthode non paramétrique : méthode de référence
- La méthode paramétrique
- La méthode robuste

Le choix de la méthode dépend de la distribution des valeurs de référence obtenues ainsi que du nombre de valeurs de référence disponible (Vergneau et Mazelier, 2014).

La méthode non paramétrique de référence est utilisable avec un minimum de 120 individus dans l'échantillon de référence. Du fait de la faible occupation de l'espèce étudiée sur le territoire français et du fait de la contrainte géographique majeure, l'obtention d'un tel échantillon était inenvisageable. La méthode de référence n'a donc pas été utilisée dans cette étude (Vergneau et Mazelier, 2014).

Les méthodes paramétrique et robuste sont utilisables sur des échantillons de petite taille, le minimum à ne pas sous-passer étant de 20 individus, valeur en deçà de laquelle aucune détermination d'intervalle de référence n'est possible. La méthode robuste est applicable quel que soit la distribution des valeurs de référence alors que la méthode paramétrique ne s'applique qu'à une série de valeur dont la distribution est normale ou est susceptible d'être transformée pour le devenir (notamment par la transformation Box-cox). Cependant, les performances de la méthode robuste sont meilleures lorsque la distribution est symétrique. A taille d'échantillon égale, la méthode robuste présente aussi l'avantage d'obtenir une précision supérieure aux méthodes paramétrique et non paramétrique. De plus cette méthode se voit moins influencée par la présence des valeurs aberrantes que les deux autres méthodes (Vergneau et Mazelier, 2014).

Il a été montré que des intervalles de référence déterminés par la méthode robuste sur 20 individus de référence sélectionnés aléatoirement parmi un échantillon initial de 120 individus de référence n'étaient pas significativement différents des intervalles de référence déterminés par la méthode non paramétrique sur ces mêmes 120 individus. Les valeurs de référence possédaient une distribution strictement gaussienne et présentaient une absence de valeur aberrante dans ce cas. Cependant, il faut noter que l'utilisation d'échantillons de petite taille fait diminuer la précision de la détermination (Vergneau et Mazelier, 2014).

Lorsque le but de l'étude est de déterminer des intervalles de référence sur une espèce exotique, sauvage, ou dont l'étendue de la population oblige à un échantillon de taille restreinte, il est recommandé d'utiliser la méthode robuste et la méthode paramétrique en parallèle, avec transformation préalable par la méthode Box-Cox au besoin. Si les résultats concordent avec les deux méthodes, c'est un indice de fiabilité des intervalles de référence ainsi déterminés. (Vergneau et Mazelier, 2014)

Ainsi, dans cette étude, la détermination des intervalles de référence s'effectuant sur un échantillon de petite taille, les méthodes robustes et paramétriques ont été utilisées en parallèle, avec au besoin une transformation par la méthode Box-Cox. Aucun test statistique n'est cependant documenté pour la comparaison objective d'intervalles.

2.1.3.2 - Des résultats bruts à l'obtention des intervalles de référence : description de la méthode utilisée dans cette étude

- **Méthode théorique d'obtention des intervalles de référence**

Dans cette étude, la détermination des intervalles de référence a été réalisée par l'utilisation en parallèle des méthodes robuste et paramétrique pour toutes les séries de données le permettant. Cependant, afin de pouvoir utiliser ces méthodes avec le plus de fiabilité possible, des transformations peuvent s'appliquer au préalable sur les séries de données brutes.

Description statistique préalable des séries de valeurs de référence :

Pour chaque série de valeurs de référence, une description statistique doit être réalisée. Cette description dépend en majorité de la distribution des valeurs de référence. En effet, si la distribution des valeurs de référence est normale, elle est décrite par sa moyenne et son écart-type. Si la distribution n'est pas normale, la description statistique réside dans le calcul de la médiane et de l'intervalle interquartile.

Afin de savoir si la distribution d'une série de valeurs est normale, le test d'Anderson-Darling peut être utilisé. Ce test statistique fournit un produit statistique, que l'on appelle P. Si $P < 0.05$, il y a une faible probabilité que la distribution des valeurs de référence suive une loi normale. Si $P > 0.05$, il y a une forte probabilité que la distribution des valeurs de référence suive une loi normale.

Identification des valeurs aberrantes :

On appelle « valeurs aberrantes », des valeurs appartenant à la série de résultats bruts, qui n'appartiennent pas à la vraie distribution des valeurs de référence. Elles peuvent résulter de nombreux facteurs (variabilité individuelle, individu non représentatif de la population de référence, individu présentant un problème de santé non connu, prélèvement de mauvaise qualité etc…) et doivent être identifiées clairement avant la détermination des intervalles de référence. En effet, leur présence dans la série de données analysées peut modifier les limites de référence et ainsi fausser les résultats de l'étude.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour estimer ou identifier ces valeurs aberrantes, lorsqu'elles existent. Tout d'abord, l'analyse visuelle de l'histogramme de distribution des valeurs de référence peut permettre d'identifier une valeur très isolée des autres. Cependant, cette méthode ne présente aucune qualité statistique. Deux méthodes statistiques existent pour l'identification des valeurs aberrantes d'une série de données :

- Le test statistique de Dixon
- Le test des interquartiles de Tukey

Le test des interquartiles de Tukey peut détecter plusieurs valeurs aberrantes à la fois aux deux extrémités de la distribution de valeurs de référence, alors que le test de Dixon ne peut en identifier qu'une seule à la fois, à chaque extrémité. Pour cette raison, le test de Tukey est dit éliminatoire, à l'inverse de celui de Dixon considéré comme conservateur. Cependant, l'avantage du test de Dixon est qu'il ne nécessite pas que la distribution des valeurs de référence considérées suive une loi normale contrairement au test de Tukey.

Dans notre étude, le choix a été fait d'utiliser simultanément les deux tests. Si des valeurs aberrantes sont identifiées par l'une et/ou l'autre des deux méthodes, elles sont retirées de la série de valeurs de référence utilisée pour la détermination des intervalles de référence.

Après le retrait de valeur aberrante sur une série de valeurs de référence, un nouveau P d'Anderson-Darling peut être calculé.

Normalisation de la distribution des séries de données :

La détermination des intervalles de référence par la méthode paramétrique nécessite la normalité de la distribution des valeurs de référence. De plus, les performances de la méthode robuste sont meilleures lorsque la distribution est gaussienne, même si cette méthode est utilisable sans condition.

Afin de pouvoir utiliser ces deux méthodes dans les meilleures conditions, il est donc préférable d'avoir des distributions gaussiennes.

Pour une distribution de valeurs de référence donnée, si $P>0.05$ (après retrait des valeurs aberrantes si il y a lieu), il a une forte probabilité que la distribution suive une loi normale. Les méthodes robuste et paramétrique peuvent donc y être appliquées directement. Si $P<0.05$, on peut appliquer la fonction Box-Cox à la série de valeurs de référence afin d'essayer d'obtenir une distribution gaussienne. Après transformation, on peut calculer un nouveau P, si celui-ci est supérieur à 0.05, on peut alors appliquer les méthodes robuste et paramétrique sur la distribution de valeurs de référence ainsi transformée.

Recherche de la symétrie de la distribution :

Si l'utilisation de la fonction Box-Cox ne suffit pas pour rendre la distribution gaussienne, c'est-à-dire que $P<0.05$ après transformation, il faut se poser la question de la symétrie de la distribution. En effet, si $P<0.05$ malgré les transformations de la série de données, la méthode paramétrique ne peut pas être utilisée. Cependant, la méthode robuste peut l'être et celle-ci est sensible à l'asymétrie de la distribution. Sur un échantillon de petite taille, avec une distribution non gaussienne des valeurs de référence, il faut s'assurer de sa symétrie pour pouvoir accorder un minimum de confiance aux résultats obtenus par la méthode robuste. Pour cela, on peut calculer le coefficient d'asymétrie de la distribution. Si sa valeur absolue est inférieure à 1, la probabilité que la distribution soit symétrique est élevée. On peut donc y appliquer la méthode robuste.

➢ Utilisation du logiciel RefValAdv

Dans cette étude, le logiciel « Reference Value Advisor » a été utilisé pour tous les calculs d'ordre statistique, la représentation graphique des séries de valeurs de référence et la détermination finale des intervalles de référence avec les différentes méthodes. Il s'agit d'un outil gratuit développé par l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, en téléchargement libre sur le site : http://www.biostat.envt.fr/spip/spip.php?article63. La version utilisée dans cette étude est la version 2.1 optimisée pour Microsoft office 2010.

Cet outil s'utilise comme une annexe d'Excel. Pour une variable donnée, la série de valeurs de référence est saisi dans le logiciel Excel en colonne, la première ligne étant le nom de la variable concernée. Après sélection de la colonne de données, RefValAdv est lancé et fournit à partir de celle-ci une nouvelle feuille Excel comprenant le rapport d'analyses des données. La figure 19 en est un exemple.

L'utilisation de ce logiciel a permis d'utiliser les principes statistiques énoncés précédemment.

Figure 19 – Exemple de rapport d'analyse produit par RefValAdv pour la variable « Créatinine »

Reference Value Advisor V2.1	Results for Créatinine				
				Date	17/04/2015
				Performed by	Mathilde
	Untransformed data		Box-Cox transformed data		
Method	Standard	Robust	Standard	Robust	Nonparametric
N	43	43	43	43	43
Mean	15,3		3,5		
Median	15,0	14,5	3,5	3,4	
SD	3,8	3,9	0,9	0,9	
Mininum	9	9	1,5	1,5	
Maximum	27	27	5,8	5,8	
λ_1 coefficient Box-Cox			-5,751	-5,751	
λ_2 coefficient Box-Cox			0,381	0,381	
P-Value **Anderson-Darling**/	0,008		0,232		
Symmetry test for Robust		0,004		0,000	
Outliers **Dixon**					
Outliers **Tukey**	0	0	0	0	
Suspect data **Tukey**	3	3	1	1	
Lower limit of reference interval	7,5	6,7	9,3	9,1	9,2
Upper limit of reference interval	23,1	22,3	24,1	23,6	26,7
90% CI for lower limit	6,3	4,9	8,5	8,3	9,0
	9,2	8,7	10,2	10,1	11,0
90% CI for upper limit	20,3	20,4	21,7	21,2	23,4
	25,4	24,7	26,4	26,7	27,0
Comments					
Suspect data detected according to Tukey. IFCC-CLSI C28-A3 recommends that unless these data					
are known to be aberrant observations, the emphasis should be on retaining rather than deleting them.					
The sample size is large enough to compute the nonparametric reference interval : [9,2 ; 26,7].					
The confidence intervals of the limits of the nonparametric reference interval was determined using a bootstrap method.					
The 90% CI of one (or more) limit is larger than recommended in IFCC-CLSI C28-A3.					

2.1.3.3 – Traitements des données issues de l'analyse des frottis sanguins

A partir des lectures de frottis en coloration MGG, nous avons d'abord étudié la possibilité d'établir un intervalle de référence pour le pourcentage de chaque type cellulaire leucocytaire parmi la totalité de la population leucocytaire. La méthodologie utilisée a été celle décrite précédemment. L'intervalle de référence obtenu par comptage manuel a pu alors être comparé à l'intervalle de référence obtenu pour la numération formule sanguine. Il faut rappeler que l'analyse des pourcentages des différents types leucocytaires doit toujours se faire à la lumière de leur numération. Ensuite, pour chaque type cellulaire, une description précise de la morphologie cellulaire et une quantification précise des particularités de certaines cellules ont été réalisées.

A partir des lectures de frottis en coloration Bleu de Crésyl Brillant, une description précise des morphologies érythrocytaires et réticulocytaire a été établie. La possibilité d'établir un intervalle de référence pour le pourcentage de réticulocytes obtenus par frottis a ensuite été étudiée par la méthode décrite précédemment.

2.2 – Traitement des résultats bruts et établissement des intervalles de référence

Description préalable de l'échantillon de référence :

L'ensemble des prélèvements a été réalisé sur trois séances : le 7 mai 2014, le 20 novembre 2014 et le 10 avril 2015. Quarante-huit individus correspondaient aux critères d'inclusion et ont été l'objet d'un questionnaire à l'éleveur et d'un examen clinique général. Cependant uniquement 45 prélèvements sur tube EDTA et 43 prélèvements sur tube sec gélosé ont pu être réalisés. Les animaux n'ayant pu être prélevé l'ont été par impossibilité de contention lors de la ponction veineuse.

Sur les 45 prélèvements sur tube EDTA, 21 provenaient de mâle entier (47,7%) et 23 de femelles (52,3%). Parmi ces 23 femelles, 14 (60,8%) étaient gestantes.

Sur les 43 prélèvements sur tube sec gélosé, 19 provenaient de mâle entier (44,2%) et 24 de femelles (55,8%). Parmi ces 24 femelles, 14 (58,3%) étaient gestantes.

Sur les 45 prélèvements sur tube EDTA, 24 provenaient d'animaux tondus (53,3%), ce qui correspond à la première séance de prélèvements du 7 mai 2014 avant laquelle les animaux venaient d'être tondus.

Sur les 43 prélèvements sur tube sec gélosé, 22 provenaient d'animaux tondus (51,2%).

Un individu de référence, femelle non gestante de 2 ans, a été exclu de l'étude hématologique à posteriori, c'est-à-dire après la date de prélèvement. En effet, cet individu présentait une numération formule sanguine très modifiée, avec une anémie sévère non détectée à l'examen clinique et ne pouvait donc pas être à priori considéré comme sain pour l'étude hématologique.

2.2.1 – Détermination des intervalles de référence des variables biochimiques

2.2.1.1 Statistiques descriptives des résultats des analyses biochimiques

Le tableau 8 ci-dessous décrit pour chacun des paramètres biochimiques étudiés : le nombre de valeurs de référence, le minimum et le maximum de la série de valeurs et la valeur de P du test d'Anderson-Darling, test évaluant la normalité d'une distribution de valeurs. Si P est inférieur à 0,05, il y a une forte probabilité que la normalité de la distribution ne soit pas assurée, la description de la distribution doit alors passer par la médiane et l'intervalle interquartile. Au contraire, si P est supérieur à 0,05, il y a une forte probabilité que la normalité de la distribution soit assurée et la description de la distribution passe alors par la moyenne et l'écart-type.

Tableau 8 – Statistiques descriptives des résultats d'analyses

Variable	Nombre de valeurs de référence	P	Normalité de la distribution ?	Médiane	IQR	Min.	Max
Urée	43	0,047	Peu probable	0,3	0,07	0,18	0,51
Créatinine	43	0,08	Probable	15,0	4	9	27
Glucose	43	0,035	Peu probable	1,3	0,13	1,02	1,63
ASAT	43	$5{,}4.10^{-6}$	Peu probable	193	70,5	118	514
CK	43	$3{,}8.10^{-10}$	Peu probable	115	181	43	1074
GGT	43	0,033	Peu probable	20	6	0	34

Comme le montre le tableau 8 ci-dessus, la valeur de P est supérieure à 0,05 pour la glycémie et inférieure à 0,05 pour toutes les autres variables de l'étude. Il y a donc une forte probabilité pour ces autres variables, que leur distribution ne soit pas gaussienne.

Les figures 20 à 25 ci-dessous représentent les histogrammes de distribution de chacune des variables biochimiques étudiées. Une simulation de loi normale est représentée par une courbe sur chaque graphique, basée sur une estimation des moyennes et écart-type des valeurs de référence.

Figure 20 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Créatinine »

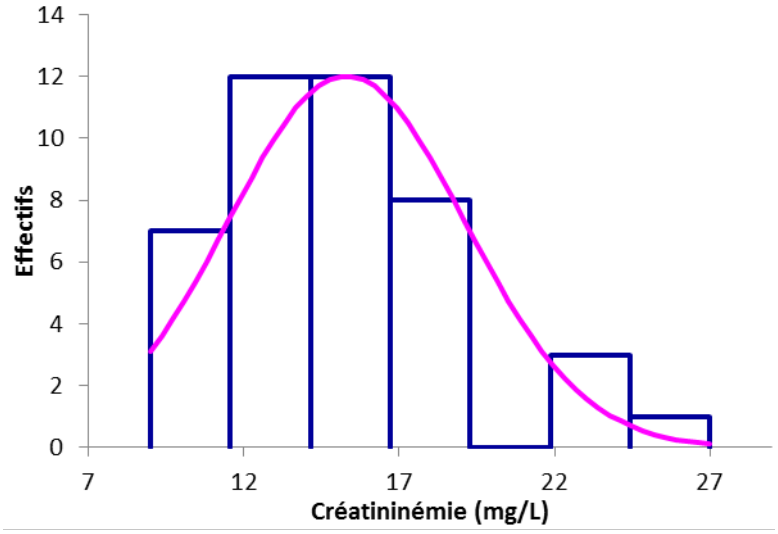


Figure 21 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Urée »

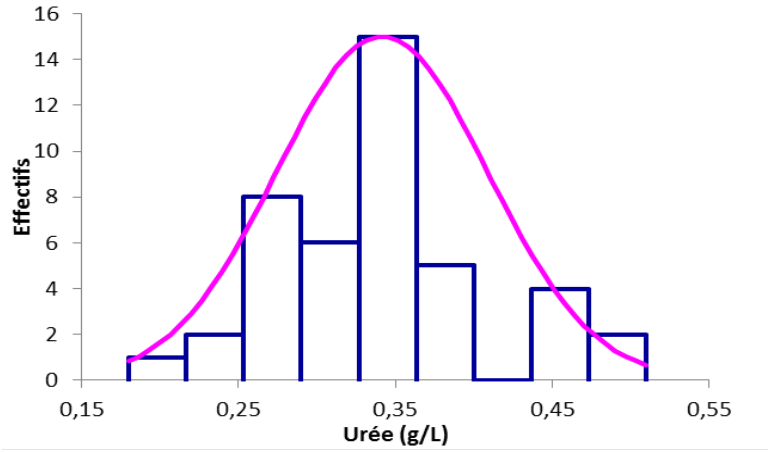


Figure 22 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Glucose »

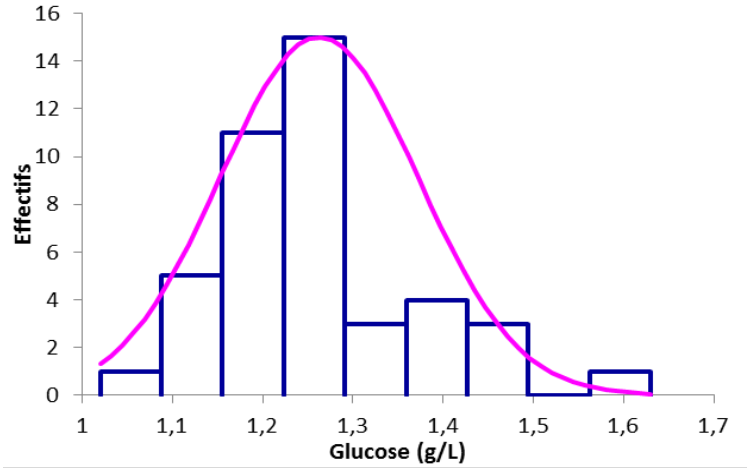


Figure 23 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « ASAT »

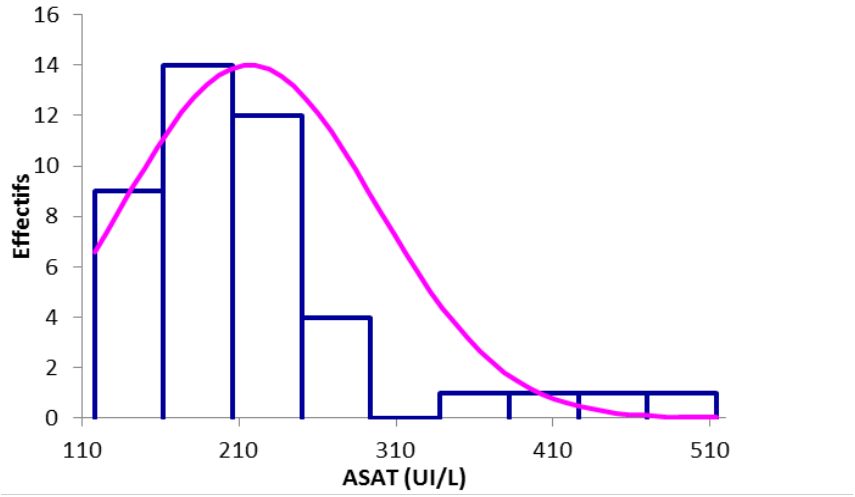


Figure 24 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « CK »

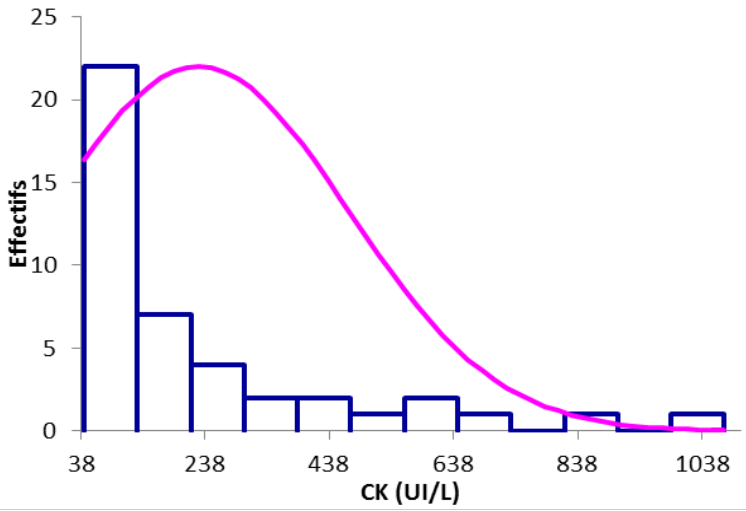
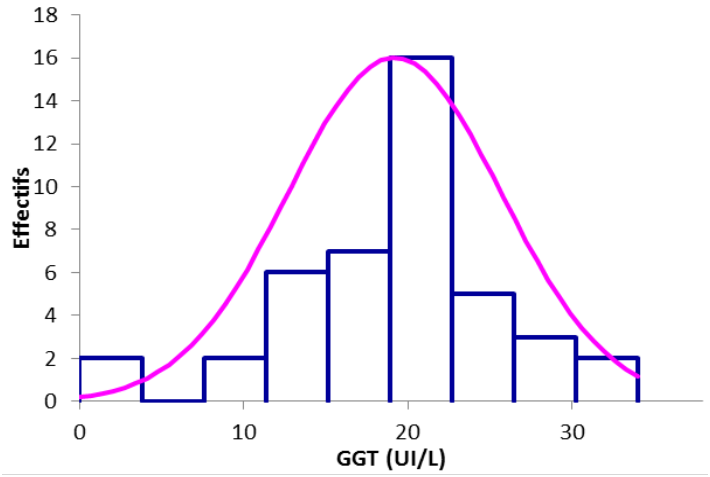


Figure 25 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « GGT »



2.2.1.2 – Transformation préalable des séries de données

Pour chaque variable et avant toute transformation de la distribution, nous avons ensuite recherché l'existence de valeurs aberrantes.

Aucune valeur aberrante n'est détectée selon les méthodes de Dixon et Tukey par le logiciel pour les variables « urée », « créatinine » et « GGT ». Le tableau 9 ci-dessous récapitule le nombre et l'identité des valeurs aberrantes détectées pour chaque variable.

Tableau 9 – Identification et retrait des valeurs aberrantes des variables biochimiques – conséquences sur P

Variable	N*	P initial	Nombre de valeurs aberrantes [Valeur]	N1*	P après retrait des valeurs aberrantes	Probabilité de normalité de la distribution
Urée	43	0,047	0			Faible
Créatinine	43	0,08	0			Forte
Glucose	43	0,035	1 [Max]	42	0,139	Forte
ASAT	43	$5{,}4.10^{-6}$	1 [Max]	42	0,001	Faible
CK	43	$3{,}8.10^{-10}$	2 [2 valeurs max]	41	$2{,}0.10^{-8}$	Faible
GGT	43	0,033	0			Faible

**N et N1 sont respectivement le nombre de valeurs de référence avant et après retrait des valeurs aberrantes*

Pour toutes les variables dont P < 0,05, la transformation de Box-Cox est appliquée. Le tableau 10 ci-dessous récapitule les valeurs de P initiales, puis après retrait des valeurs aberrantes et après transformation de Box-Cox pour toutes les variables biochimiques.

Tableau 10 – Tableau récapitulatif des transformations appliquées aux séries de données

Variables	Valeur de P initiale	Nombre de valeurs aberrantes soustraites	Valeur de P après retrait	Valeur de P après transformation de Box-Cox
Urée	0,047	0	-	0,138
Créatinine	0,08	0	-	-
Glucose	0,035	1	0,139	-
ASAT	$5{,}4.10^{-6}$	1	0,001	0,960
CK	$3{,}8.10^{-10}$	2	$2{,}0.10^{-8}$	0,801
GGT	0,033	0	-	0,073

Après transformation de Box-Cox, P est supérieur à 0,05 pour l'ensemble des variables concernées, la probabilité que la distribution des valeurs de référence transformée selon la fonction Box-Cox suive une loi normale est donc élevée. Il est désormais possible d'appliquer les méthodes paramétrique et robuste à toutes les variables de l'étude.

2.2.1.3 Application des méthodes robuste et paramétrique : détermination des intervalles de référence de valeurs biochimiques

Pour chaque variable, la méthode robuste et paramétrique est appliquée. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 11 ci-dessous.

Tableau 11 – Intervalles de référence calculés pour les valeurs biochimiques de l'alpaga

Variable	Limite inférieure de l'intervalle de référence [IC 90%]	Limite supérieure de l'intervalle de référence [IC 90%]	Valeurs de référence	Valeur de P d'Anderson-Darling	Méthode utilisée
Urée	**0,2** [0,2-0,2]	**0,5** [0,5-0,5]	43	0,138	Paramétrique[a]
	0,2 [0,2-0,2]	**0,5** [0,4-0,5]			Robuste[a]
Créatinine	**9,3** [8,5-10,2]	**24,1** [21,7-26,4]	43	0,232	Paramétrique[b]
	9,1 [8,3-10,1]	**23,6** [21,2-26,7]			Robuste[b]
Glucose	**1,1** [1,0-1,1]	**1,5** [1,4-1,5]	42	0,139	Paramétrique[b]
	1,1 [1,0-1,1]	**1,5** [1,4-1,5]			Robuste[b]
ASAT	**125,1** [117,2-136,9]	**396,0** [328,9-480,2]	42	0,960	Paramétrique[a]
	124,9 [115,6-136,6]	**397,5** [325,5-488,7]			Robuste[a]
CK	**43** [42,3-45,8]	**753,3** [531,1-1031,6]	41	0,801	Paramétrique[a]
	43 [42,3-45,4]	**755,5** [522,5-1026,5]			Robuste[a]
GGT	**5,5** [2,0-8,8]	**31,7** [29,1-34,0]	43	0,073	Paramétrique[a]
	5,7 [1,7-9,7)	**31,8** [28,7-34,8]			Robuste[a]

[a] *: Méthode utilisée après transformation de Box-Cox*
[b] *: Méthode utilisée sans transformation de Box-Cox.*

Les intervalles établis, l'ont été selon les deux méthodes adaptées à la taille et aux caractéristiques de notre échantillon, il est donc question de comparer les intervalles obtenus. Ceux-ci sont tous très proches voir identiques, on peut donc leur accorder une bonne confiance.

2.2.2 - Détermination des intervalles de référence des variables hématologiques

2.2.2.1 – Statistiques descriptives des résultats d'analyses hématologiques

Le tableau 12 ci-après décrit pour chacune des variables hématologiques de la numération formule sanguine : le nombre de valeurs de référence, le minimum et le maximum de la série de valeurs et la valeur de P du test d'Anderson-Darling. Si P est inférieur à 0.05, la probabilité que la normalité de la distribution ne soit pas assurée est forte ; la description de la distribution doit alors passer par la médiane et l'intervalle interquartile. Au contraire, si P est supérieur à 0.05, la probabilité que la normalité de la distribution soit assurée est forte et la description de la distribution passe alors par la moyenne et l'écart-type.

Lors des manipulations au laboratoire d'hématologie de l'ENVA, tous les hématocrites calculés par l'automate ont été vérifiés par des microhématocrites, réalisés par mes soins. La comparaison des valeurs de l'automate et des valeurs obtenues manuellement met en évidence une différence majeure et systématique, avec des valeurs plus élevées obtenues par le micro-hématocrite. Le choix est fait de réaliser la détermination des intervalles de référence avec les deux séries de valeur, en tenant bien compte de la différence de technique de mesure.

De plus, un animal présentait des valeurs de taux d'hémoglobine et numération globulaire très faible, signifiant une anémie marquée. Par mesure de précaution, cet animal a été écarté de l'échantillon d'analyses hématologiques. L'échantillon de référence était donc composé de 43 alpagas.

Les abréviations suivantes sont utilisées dans le tableau :

- N.L. : Numération leucocytaire
- N.G. : Numération globulaire
- HGB : Taux d'hémoglobine
- HCT : Hématocrite
- Auto : selon les valeurs calculées par l'automate
- Manuel : selon les valeurs mesurées
- VGM : Volume globulaire moyen
- TGMH : Teneur globulaire moyenne en hémoglobine
- CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
- RDW-SD et RDW-CV : (Red Blood Cell Distribution Width) : il s'agit d'indicateurs de variations de taille et de volume des globules rouges, ils s'expriment en unité de volume de variation pour l'un (RDW-SD) et en pourcentage pour l'autre (RDW-CV)

Tableau 12 – Statistiques descriptives des résultats d'analyses hématologiques

Variable	N*	P*	Norm.*	Méd.*	IQR*	Moy*	Ecart-Type	Min.*	Max*
N.L. ($10^3/\mu L$)	44	0,013	Faible	13,5	4,07			4,89	27,54
N.G. ($10^6/\mu L$)	44	0,531	Forte			11,9	1,5	9,52	15,5
HGB (g/dL)	44	0,196	Forte			12,7	1,7	9,7	18
HCT auto. (%)	44	0,057	Forte			22,2	2,6	17,6	30,8
VGM auto (fL)	44	0,464	Forte			18,7	1,4	16	22,2
TGMH (pg)	44	0,151	Forte			10,6	0,4	9,8	11,6
CCMH auto (g/dL)	44	0,184	Forte			57,3	3,6	51	63,8
HCT manuel (%)	44	0,463	Forte			28,8	3,2	21	35
VGM manuel (%)	44	0,018	Faible	23,9	1,75			21,3	29,4
CCMH manuel (%)	44	0,518	Forte			44,1	2,7	37,50	51,42
Numération plaquettaire ($10^3/\mu L$)	44	0,033	Faible	314,5	78,25			52	548
RDW-SD (fL)	44	0,025	Faible	16,6	1,63			15,1	19,4
RDW-CV (%)	44	0,373	Forte			30,6	2,4	26,2	36,3
Neutrophiles ($10^3/\mu L$)	44	0,006	Faible	8,2	3,17			3,49	19,4
Neutrophiles (%)	44	0,395	Forte			62,5	7,8	46	77,4
Lymphocytes ($10^3/\mu L$)	44	0,353	Forte			3,0	1,3	0,78	5,93
Lymphocytes (%)	44	0,119	Forte			23,2	8,7	8,5	44,2
Monocytes ($10^3/\mu L$)	44	0,657	Forte			0,7	0,3	0,1	1,5
Monocytes (%)	44	0,031	Faible	4,9	1,7			1,8	10,4
Eosinophiles ($10^3/\mu L$)	44	$6{,}7.10^{-8}$	Faible	0,9	0,95			0,1	6,61
Eosinophiles (%)	44	0,011	Faible	7,2	6,53			0,9	30,3
Basophiles ($10^3/\mu L$)	44	0,008	Faible	0,1	0,08			0,02	0,31
Basophiles (%)	45	0,0002	Faible	1,1	0,63			0,2	4,1
Réticulocytes (%)	45	0,008	Faible	7,5	1,89			4,97	14,02
Reticulocytes ($10^6/\mu L$)	45	0,079	Forte			0,9	0,2	0,5817	1,6068

**avec n le nombre de valeurs de référence, p la valeur du P d'Anderson-Darling, « Norm » la probabilité que la distribution soit normale, « Moy. » la moyenne de la série de données, « Med » la médiane, « IQR » l'intervalle inter-quartile, « Min. » la valeur minimale de la série et « Max » la valeur maximale.*

Comme le montre le tableau 12 ci-dessus, la valeur de P est inférieure à 0,05 pour les variables « Numération leucocytaire », « VGM manuel », « Numération plaquettaire », « RDW-SD », « Numération neutrophilique », « pourcentage de monocytes », « Numération éosinophilique », « pourcentage d'éosinophiles », « Numération basophilique », « pourcentage de basophiles » et « numération réticulocytaire ». Il y a donc une forte probabilité que la distribution de ces variables ne soit pas gaussienne.

Pour les autres variables, la valeur de P est supérieure à 0,05 : il y a donc une forte probabilité que la distribution de ces variables soit gaussienne.

Les figures 26 à 49 ci-dessous représentent les histogrammes de distribution de chacune des variables hématologiques étudiées. Une simulation de loi normale est représentée par une courbe sur chaque graphique, basée sur une estimation des moyennes et écart-type des valeurs de référence.

Figure 26 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Numération leucocytaire »

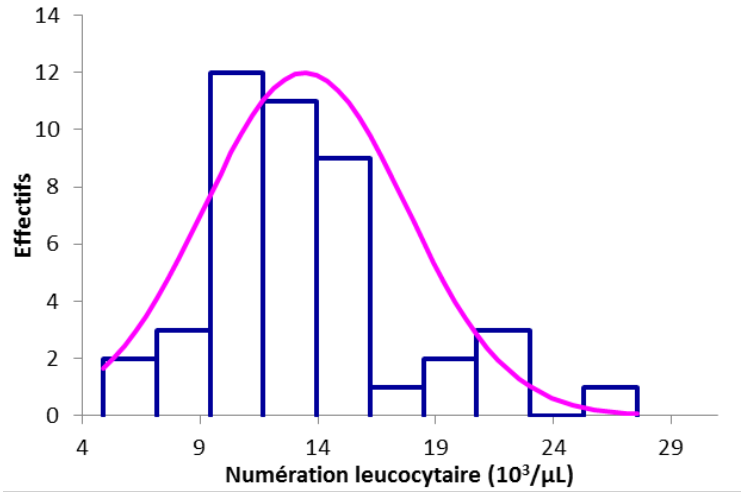


Figure 27 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Numération globulaire »

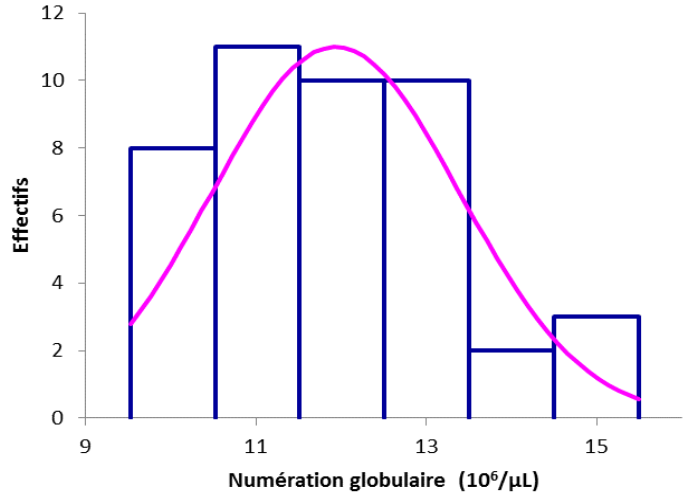


Figure 28 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Taux d'hémoglobine »

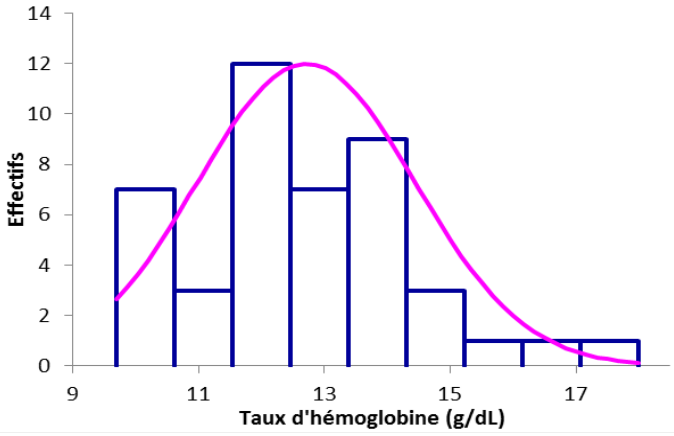


Figure 29 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Hématocrite automatique »

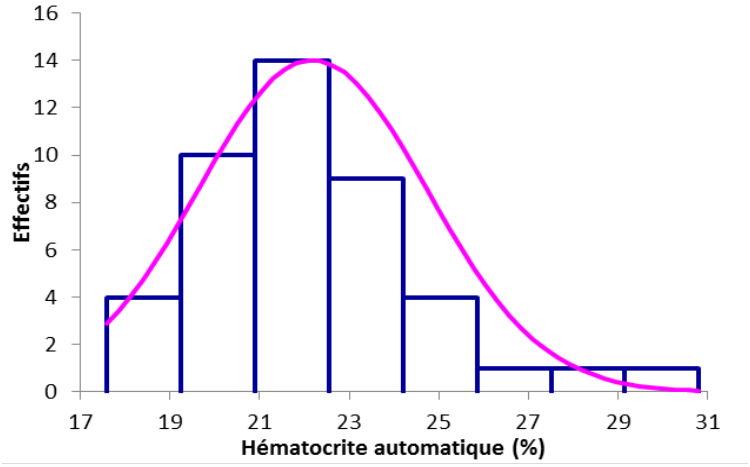


Figure 30 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « VGM automatique »

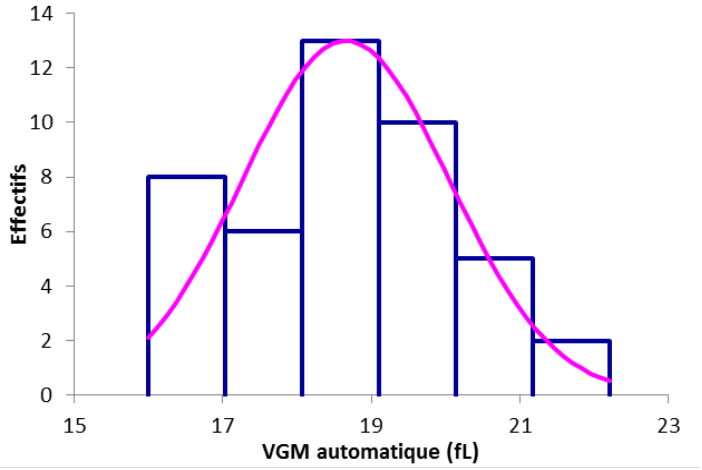


Figure 31 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « TGMH »

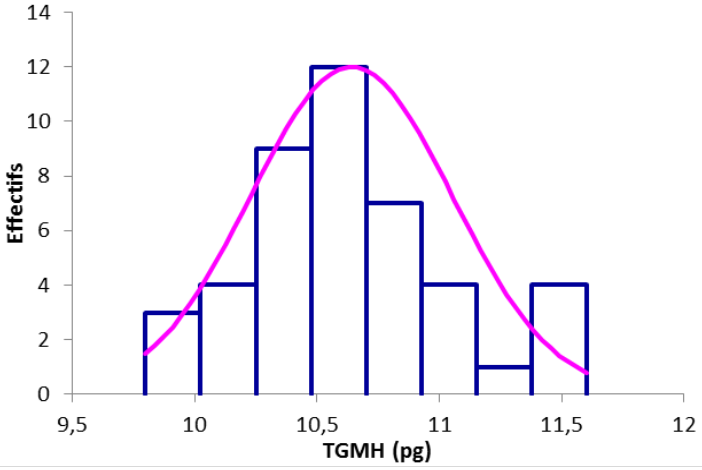


Figure 32 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « CCMH automatique »

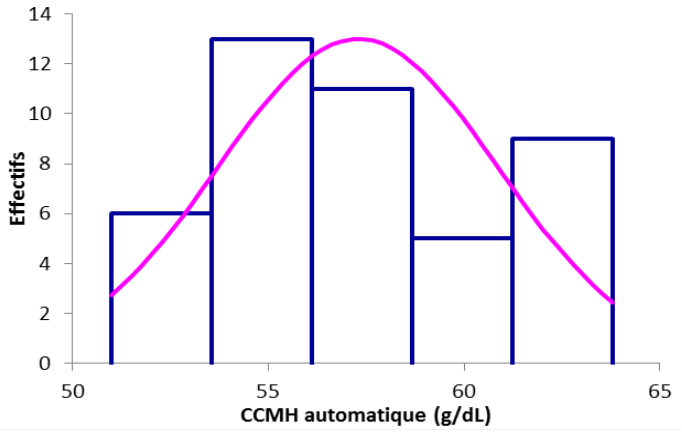


Figure 33– Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Hématocrite manuel »

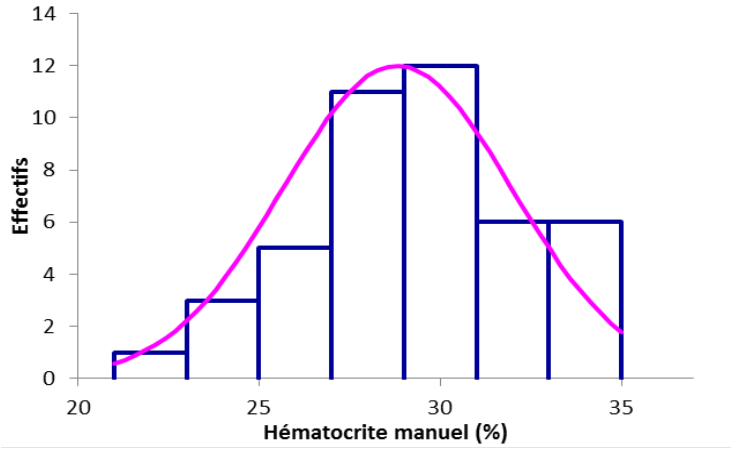


Figure 34 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « VGM manuel »

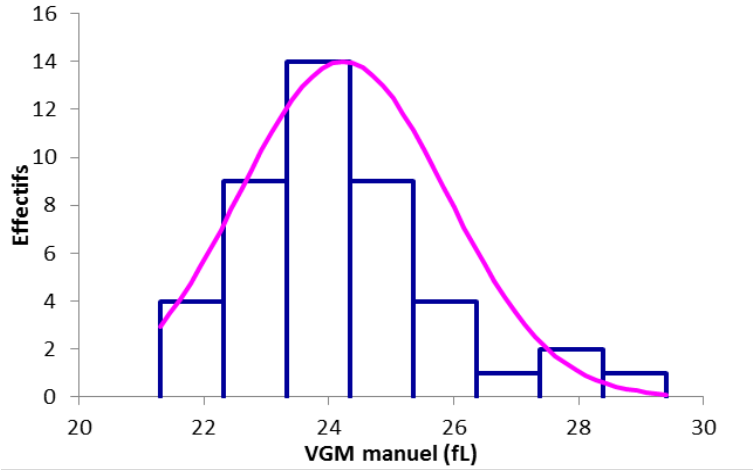


Figure 35 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « CCMH manuel »

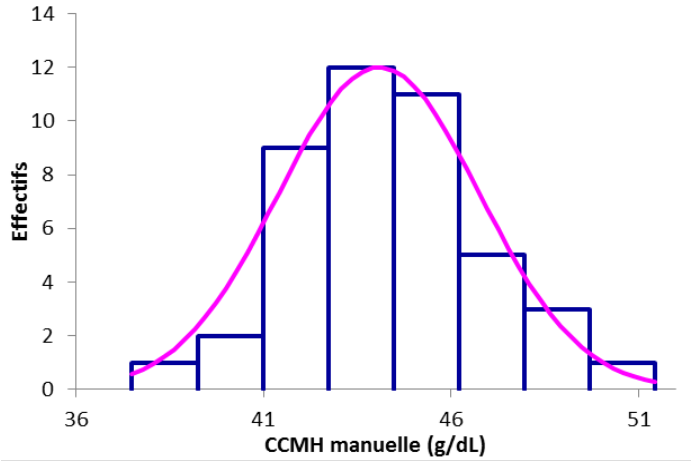


Figure 36– Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Numération plaquettaire »

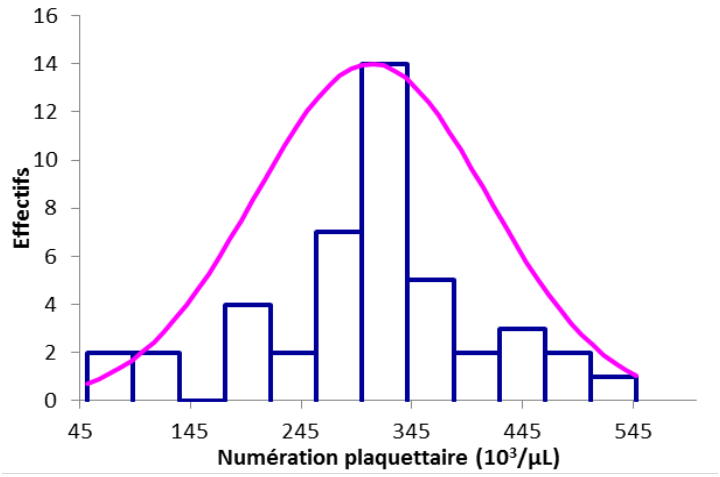


Figure 37 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « RDW-SD »

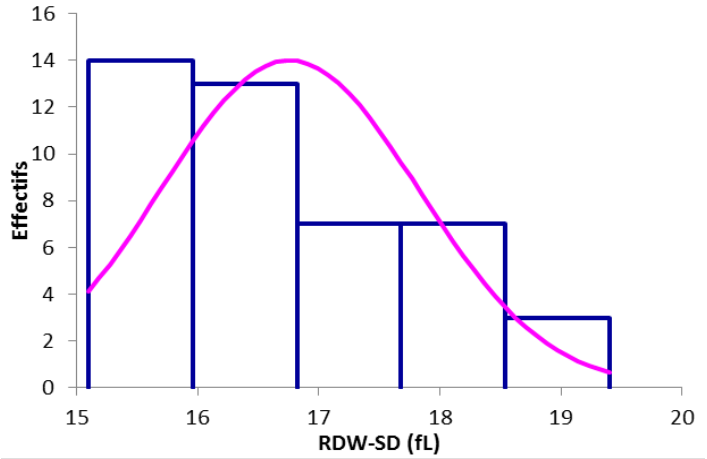


Figure 38 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « RDW-CV »

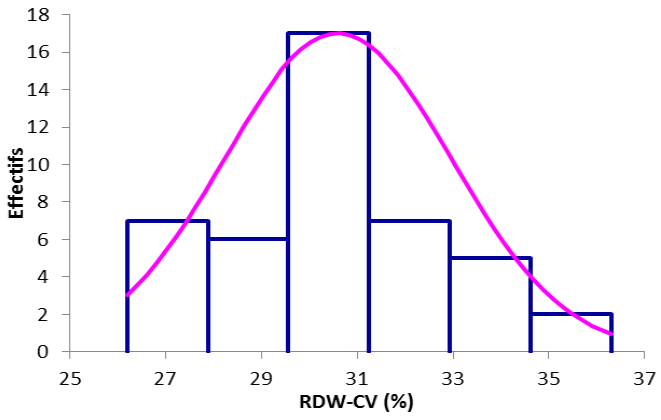


Figure 39 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Numération neutrophilique »

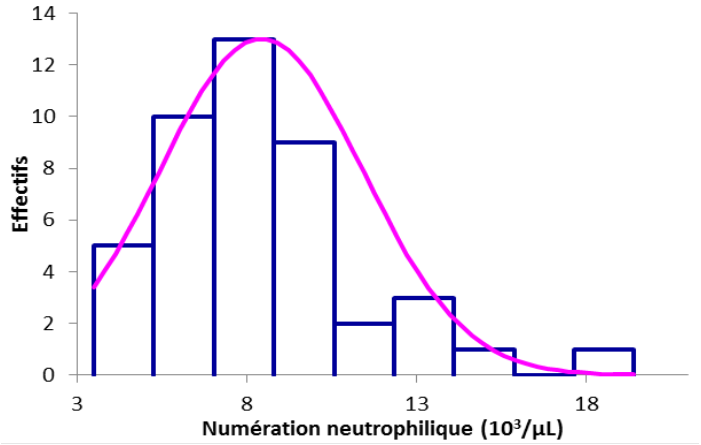


Figure 40 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Pourcentage de neutrophiles »

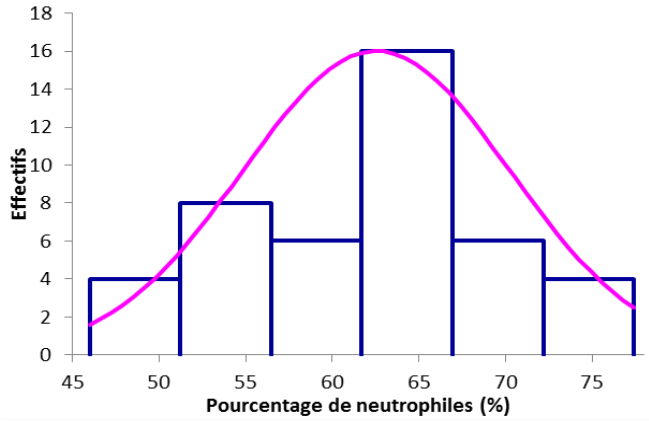


Figure 41 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Numération lymphocytaire »

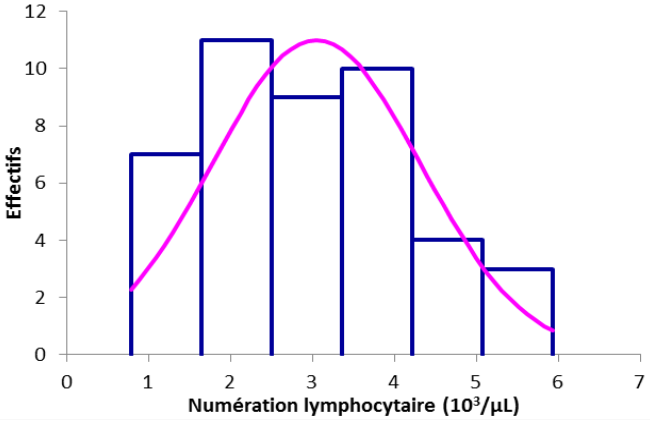


Figure 42 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Pourcentage de lymphocytes»

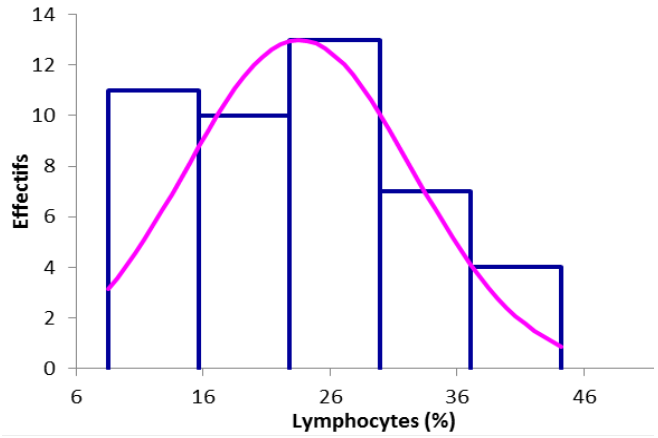


Figure 43 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Numération monocytaire »

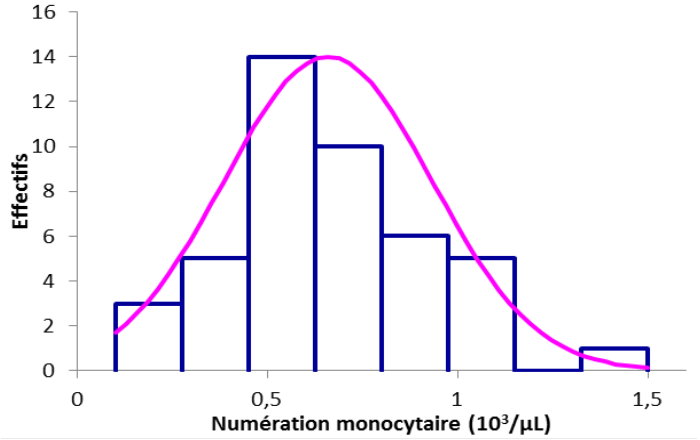


Figure 44 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Pourcentage de monocytes»

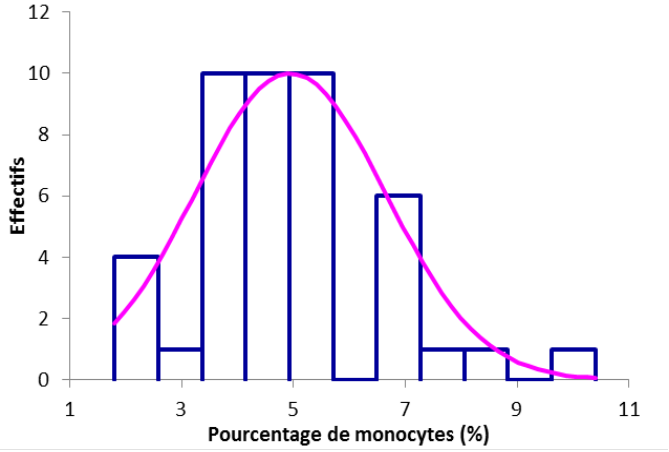


Figure 45 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Numération éosinophilique »

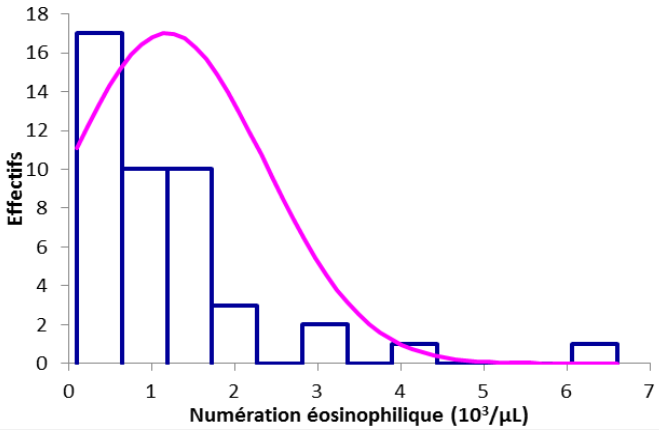


Figure 46 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Pourcentage d'éosinophiles »

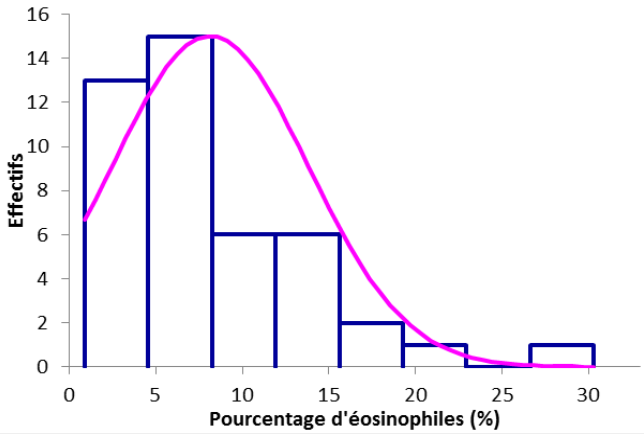


Figure 47 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Numération basophilique »

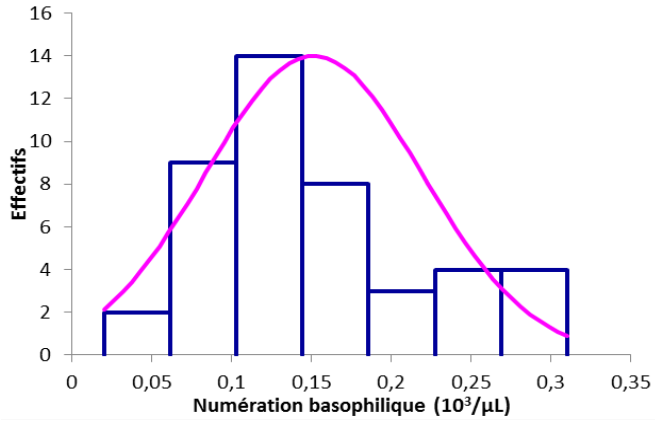


Figure 48 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Pourcentage de basophiles »

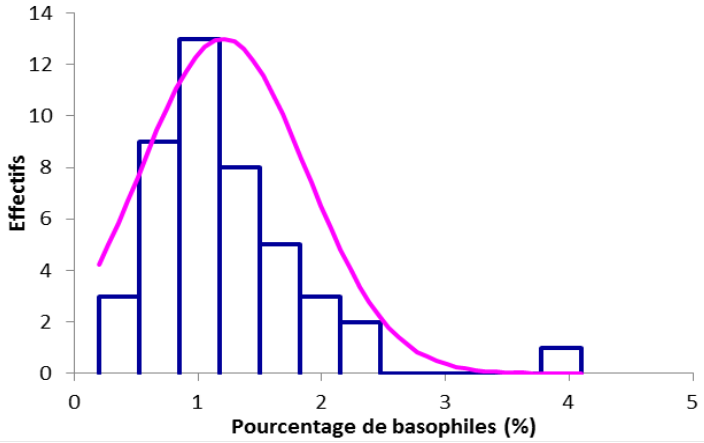


Figure 49 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Pourcentage de réticulocytes »

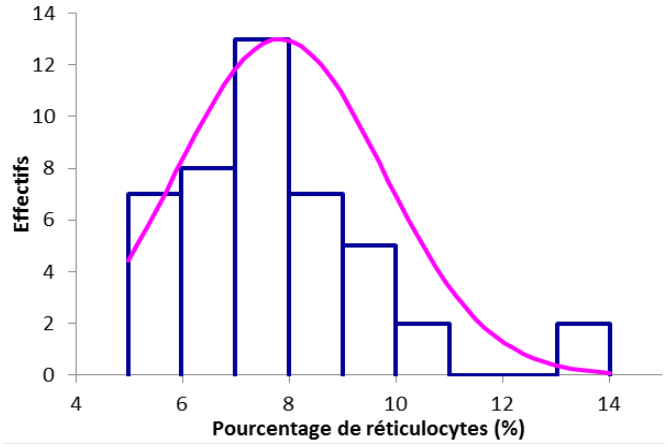
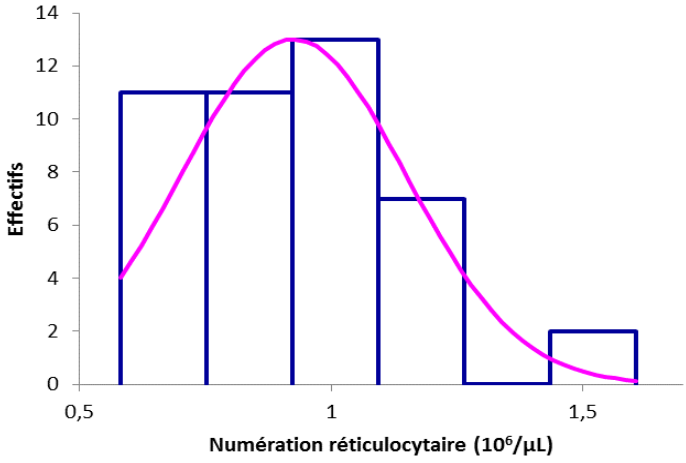


Figure 50 – Histogramme de distribution des valeurs de la variable « Numération réticulocytaire»



2.2.2.2 – Transformation préalable des séries de données

Pour chaque variable et avant toute transformation de la distribution, nous allons ensuite rechercher l'existence de valeurs aberrantes selon la méthode de Dixon.

Le tableau 13 ci-après récapitule pour chaque variable hématologique, le nombre de valeurs aberrantes identifiées et soustraites et la nouvelle valeur du P d'Anderson-Darling après transformation de la série de données.

Tableau 13 – Identification et retrait des valeurs aberrantes, conséquences sur la valeur de P

Variable	N	P initial	Nombre de valeurs aberrantes [Valeur]	N1	P après retrait des valeurs aberrantes	Probabilité de normalité de la distribution
N.L. (10^3/µL)	44	0,013	0			Faible
N.G. (10^6/µL)	44	0,531	0			Forte
HGB (g/dL)	44	0,196	0			Forte
HCT auto. (%)	44	0,057	0			Forte
VGM auto (fL)	44	0,464	0			Forte
TGMH (pg)	44	0,151	0			Forte
CCMH auto (g/dL)	44	0,184	0			Forte
HCT manuel (%)	44	0,463	0			Forte
VGM manuel (%)	44	0,018	0			Faible
CCMH manuel (%)	45	0,518	0			Forte
Numération plaquettaire (10^3/µL)	44	0,033	0			Faible
RDW-SD (fL)	44	0,025	0			Faible
RDW-CV (%)	44	0,373	0			Forte
Neutrophiles (10^3/µL)	44	0,006	1 [Max]	43	0,128	Forte
Neutrophiles (%)	44	0,395	0			Forte
Lymphocytes (10^3/µL)	44	0,353	0			Forte
Lymphocytes (%)	44	0,119	0			Forte
Monocytes (10^3/µL)	44	0,657	1 [Max]	43	0,873	Forte
Monocytes (%)	44	0,031	1 [Max]	43	0,134	Forte
Eosinophiles (10^3/µL)	44	$6{,}7.10^{-8}$	1 [Max]	43	0,0004	Faible
Eosinophiles (%)	44	0,011	1 [Max]	43	0,155	Forte
Basophiles (10^3/µL)	44	0,008	0			Faible
Basophiles (%)	44	0,0002	1 [Max]	43	0,021	Faible
Réticulocytes (%)	44	0,008	0			Faible
Reticulocytes (10^6/µL)	44	0,079	0			Forte

Après retrait des valeurs aberrantes, quelques variables ont encore un P d'Anderson-Darling inférieure à 0,05 : il s'agit des variables « Numération leucocytaire », « VGM manuel », « Numération plaquettaire », « Pourcentage de monocytes », « Numération éosinophilique », « Numération basophilique », « Pourcentage de basophiles » et « Pourcentage de réticulocytes ». Pour ces variables, nous allons appliquer la transformation de Box-Cox. Le tableau 14 ci-dessous représente les valeurs de P pour ces variables après retrait des valeurs aberrantes puis après transformation de Box-Cox.

Tableau 14 – Utilisation de la transformation de Box-Cox sur les variables dont P < 0,05

Variable	P initial	P après retrait des valeurs aberrantes	P après transformation de Box-Cox	Probabilité de normalité de la distribution après transformation
N.L. (10^3/µL)	0,013		0,252	Forte
VGM manuel (%)	0,018		0,764	Forte
Numération plaquettaire (10^3/µL)	0,033		0,074	Forte
RDW-SD (fL)	0,025		0,176	Forte
Eosinophiles (10^3/µL)	$6{,}7.10^{-8}$	0,0004	0,761	Forte
Basophiles (10^3/µL)	0,008		0,466	Forte
Basophiles (%)	0,0002	0,021	0,531	Forte
Réticulocytes (%)	0,008		0,513	Forte

Après transformation de Box-Cox, la probabilité que la distribution des variables concernées soit normale est forte pour toutes les variables.

Le tableau 15 ci-après résume les transformations appliquées à chaque variable.

Tableau 15 – Tableau récapitulatif des transformations appliquées à chaque série de données avant application de la méthode de détermination des intervalles de référence

Variable	P initial	Valeurs aberrantes [Nouveau P]	Utilisation de la fonction Box-Cox	P final	Méthodes de détermination
N.L. (10^3/µL)	0,013	0	Oui	0,252	Méthode robuste et paramétrique
N.G. (10^6/µL)	0,531	0	Non	0,531	
HGB (g/dL)	0,196	0	Non	0,196	
HCT auto. (%)	0,057	0	Non	0,057	
VGM auto (fL)	0,464	0	Non	0,477	
TGMH (pg)	0,151	0	Non	0,151	
CCMH auto (g/dL)	0,184	0	Non	0,184	
HCT manuel (%)	0,463	0	Non	0,391	
VGM manuel (%)	0,018	0	Oui	0,764	
CCMH manuel (%)	0,518	0	Non	0,518	
Numération plaquettaire (10^3/µL)	0,033	0	Oui	0,074	
RDW-SD (fL)	0,025	0	Oui	0,176	
RDW-CV (%)	0,373	0	Non	0,753	
Neutrophiles (10^3/µL)	0,006	1 [0,128]	Non	0,128	
Neutrophiles (%)	0,395	0	Non	0,395	
Lymphocytes (10^3/µL)	0,353	0	Non	0,353	
Lymphocytes (%)	0,119	0	Non	0,119	
Monocytes (10^3/µL)	0,657	1 [0,876]	Non	0,876	
Monocytes (%)	0,031	1 [0,134]	Non	0,134	
Eosinophiles (10^3/µL)	$6{,}7.10^{-8}$	1 [0,0004]	Oui	0,761	
Eosinophiles (%)	0,011	1 [0,155]	Non	0,155	
Basophiles (10^3/µL)	0,008	0	Oui	0,466	
Basophiles (%)	0,0002	1 [0,021]	Oui	0,531	
Reticulocytes (%)	0,008	0	Oui	0,513	
Reticulocytes (10^6/µL)	0,079	0	Non	0,079	

2.2.2.3 – Application des méthodes paramétriques et robustes : détermination des intervalles de référence des valeurs hématologiques

Enfin, les méthodes paramétriques et robustes ont été appliquées aux variables préalablement transformées, comme expliqué précédemment. Le tableau 16 ci-dessous consigne tous les résultats obtenus.

Afin de conserver une cohérence scientifique, les valeurs négatives ont été ramenées à zéro.

Tableau 16 – Intervalles de référence calculés pour les valeurs hématologiques de l'alpaga

Variable	Limite inférieure de l'intervalle de référence [IC 90%]	Limite supérieure de l'intervalle de référence [IC 90%]	Valeurs de référence	Valeur de P d'Anderson-Darling	Méthode utilisée
N.L. ($10^3/\mu L$)	**6,6** [5,7-7,6]	**24,1** [21,0-26,9]	44	0,252	Paramétrique[a]
	6,6 [5,6-8,0]	**24,1** [20,5-28,2]			Robuste[a]
N.G. ($10^6/\mu L$)	**9,0** [8,4-9,6]	**14,9** [14,3-15,5]	44	0,531	Paramétrique[b]
	8,9 [8.3-9,5]	**14,9** [14,1-15,6]			Robuste[b]
HGB (g/dL)	**9,2** [8,5-9,9]	**16,3** [15,5-17,0]	44	0,196	Paramétrique[b]
	8,9 [8,2-9,9]	**16,1** [15,1-17,0]			Robuste[b]
HCT auto (%)	**16,9** [15,9-18,0]	**27,4** [26,3-28,5]	44	0,057	Paramétrique[b]
	16,6 [15,3-18,1]	**27,0** [25,6-28,5]			Robuste[b]
VGM auto (fL)	**15,8** [15,3-16,4]	**21,5** [20,9-22,1]	45	0,464	Paramétrique[b]
	15,7 [15,3-16,4]	**21,5** [20,8-22,1]			Robuste[b]
TGMH (g)	**9,8** [9,6-10,0]	**11,5** [11,3-11,7]	44	0,151	Paramétrique[b]
	9,7 [9,6-9,9]	**11,4** [11,2-11,7]			Robuste[b]
CCMH auto (g/dL)	**50,0** [48,6-51,5]	**64,6** [63,0-66,0]	44	0184	Paramétrique[b]
	49,9 [48,6-51,2]	**64,5** [62,8-66,0]			Robuste[b]

HCT manu (%)	**22,4** [21,2-23,7]	**35,3** [33,9-36,6]	44	0,463	Paramétrique[b]
	22,4 [21,2-23,9]	**35,4** [34,0-36,8]			Robuste[b]
VGM manu (fL)	**21,6** [21,2-22,0]	**28,4** [27,-29,7]	44	0,764	Paramétrique[a]
	21,6 [21,2-22,1]	**28,3** [27,0-29,8]			Robuste[a]
CCMH manu (g/dL)	**38,6** [37,6-39,7]	**49,5** [48,4-50,7]	44	0,518	Paramétrique[b]
	38,4 [48,4-50,7]	**49,4** [48,1-50,8]			Robuste[b]
Numération Plaquettaire (10^3/µL)	**69,6** [0-132,3]	**503,8** [463,8-536,0]	44	0,074	Paramétrique[a]
	70,6 [0-138,8]	**504,0** [460,9-541,2]			Robuste[a]
RDW-SD (fL)	**15,1** [14,9-15,4]	**20,1** [18,8-21,7]	44	0,176	Paramétrique[a]
	15,1 [14,9-15,4]	**20,1** [18,9-21,8]			Robuste[a]
RDW-CV (%)	**25,8** [24,8-26,7]	**35,4** [34,4-36,4]	44	0,753	Paramétrique[b]
	25,7 [24,9-26,7]	**35,4** [34,3-36,4]			Robuste[b]
Neutrophiles (10^3/µL)	**3,0** [2,0-4,1]	**13,3** [12,2-14,3]	43	0,128	Paramétrique[b]
	2,7 [1,7-3,9]	**13,0** [11,8-14,3]			Robuste[b]
Neutrophiles (%)	**46,8** [43,8-50,0]	**78,2** [74,9-81,4]	44	0,395	Paramétrique[b]
	46,6 [44,0-50,8]	**78,7** [75,6-81,6]			Robuste[b]
Lymphocytes (10^3/µL)	**0,5** [0,0-1,0]	**5,6** [5,1-6,2]	44	0,353	Paramétrique[b]
	0,3 [0,0-0,9]	**5,6** [4,9-6,2]			Robuste[b]
Lymphocytes (%)	**5,4** [2,0-9,1]	**40,9** [37,1-44,6]	44	0,119	Paramétrique[b]
	4,9 [0,7-8,2]	**40,5** [35,8-44,8]			Robuste[b]
Monocytes (10^3/µL)	**0,1** [0,0-0,2]	**1,1** [1,0-1,2]	43	0,876	Paramétrique[b]
	0,1 [0,0-0,3]	**1,1** [1,0-1,2]			Robuste[b]

Monocytes (%)	**1,7** [1,1-2,4]	**7,9** [7,2-8,5]	43	0,134	Paramétrique[a]
	1,6 [1,1-2,4]	**7,8** [7,1-8,6]			Robuste[a]
Eosinophiles (10^3/µL)	**0,1** [0,0-0,2]	**3,5** [2,7-4,4]	43	0,761	Paramétrique[a]
	0,1 [0,0-0,2]	**3,5** [2,7-4,6]			Robuste[a]
Eosinophiles (%)	**0** [0 – 0,2]	**17,0** [14,8-18,7]	43	0,155	Paramétrique[b]
	0 [0 - 0]	**16,6** [14,2-19,3]			Robuste[b]
Basophiles (10^3/µL)	**0** [0-0,1]	**0,3** [0,3-0,4]	44	0,466	Paramétrique[a]
	0 [0-0,1]	**0,3** [0,3-0,4]			Robuste[a]
Basophiles (%)	**0,4** [0,3-0,5]	**2,4** [2,1-2,8]	43	0,531	Paramétrique[a]
	0,3 [0,3-0,5]	**2,5** [2,0-3,0]			Robuste[a]
Réticulocytes (%)	**5,0** [4,7-5,4]	**12,9** [11,2-14,7]	44	0,513	Paramétrique[a]
	5,0 [4,6-5,5]	**13,0** [11,3-14,9]			Robuste[a]
Réticulocytes (10^6/µL)	**0,5** [0,3-0,5]	**1,4** [1,3-1,5]	44	0,079	Paramétrique[b]
	0,4 [0,3-0,6]	**1,3** [1,2-1,5]			Robuste[b]

[a] *Après transformation Box-Cox*

[b] *Sans transformation Box-Cox*

De même que pour les intervalles de référence pour les variables biochimiques, les intervalles calculées avec les deux méthodes sont très proches à identiques pour toutes les variables hématologiques. Il est par conséquent possible leur accorder une bonne confiance.

2.2.3 – Etude de la formule leucocytaire manuelle et éléments de morphologie cellulaire

L'étude des frottis a été réalisée à partir des 44 prélèvements utilisés pour les valeurs hématologiques de référence.

2.2.3.1 – Etude de la formule leucocytaire manuelle et comparaison aux intervalles de référence

La formule leucocytaire exprime le pourcentage de chaque type de leucocyte parmi la totalité de la population leucocytaire. Elle est à analyser systématiquement de manière concomitante aux numérations cellulaires correspondantes de la Numération-Formule Sanguine.

A partir du comptage leucocytaire réalisé sur chaque frottis, une formule leucocytaire manuelle a été établie pour chacun d'eux.

Le tableau 17 ci-dessous récapitule les données statistiques de description pour chaque variable de la formule leucocytaire manuelle et les compare aux intervalles de référence calculés dans la partie précédente. Les cases colorées en vert sont celles dont les valeurs concordent avec les intervalles de référence calculés. Les cases colorées en rouge sont celles dont les valeurs ne concordent pas avec les intervalles de référence calculés.

Tableau 17 - Statistiques descriptives des résultats obtenus et comparaison de la formule leucocytaire manuelle aux intervalles de référence calculés

Variable	N*	P*	Méd *	Moy*	Min.*	Max*	Bornes de l'intervalle de référence [IC 90%]		Valeurs inf. *	Valeurs sup.*
Neutrophiles (%)	44	0,725		60	40	79	**46,8** [a] [43,8-50,0] **46,6** [b] [44,0-50,8]	**78,2** [a] [74,9-81,4] **78,7** [b] [75,6-81,6]	7 *(de 40 à 46)*	2 *(79)*
Eosinophiles (%)	44	0,085		10,8	0	26	**0** [a] [0 – 0,2] **0** [b] [0 - 0]	**17,0** [a] [14,8-18,7] **16,6** [b] [14,2-19,3]	0	8 *(de 18 à 26)*
Basophiles (%)	44	$7{,}4.10^{-12}$	1,0		0	4	**0,4** [a] [0,3-0,5] **0,4** [b] [0,3-0,5]	**2,4** [a] [2,1-2,8] **2,5** [b] [2,1-3,0]	0	2 *(3 et 4)*
Lymphocytes (%)	44	0,019	20,5		3	58	**5,4** [a] [1,9-9,0] **4,8** [b] [0,2-8,0]	**41,7** [a] [37,9-45,4] **41,3** [b] [37,3-45,9]	1 *(3)*	7 *(de 42 à 58)*
Monocytes (%)	44	0,005	3,0		0	11	**2,1** [a] [1,7-2,5] **2,1** [b] [1,7-2,6]	**8,9** [a] [7,8-10,1] **9,0** [b] [7,8-10,1]	16 *(de 0 à 2)*	1 *(11)*

** N = nombre d'échantillon, P = valeur de P d'Anderson-Darling, Med = médiane, Moy = moyenne, Min = minimum de la série de valeur, Max = maximum de la série de valeurs, Valeurs inf. = nombre de valeurs de la série inférieures à la borne inférieure de l'intervalle de référence (détails des valeurs), Valeurs sup. = nombre de valeurs de la série supérieures à la borne supérieure de l'intervalle de référence (détails des valeurs)*

[a] : Valeurs obtenues par la méthode paramétrique

[b] : Valeurs obtenues par la méthode robuste

Toutes les moyennes et médianes obtenues pour décrire la formule leucocytaire manuelle sont comprises dans les intervalles de référence calculés dans la partie précédente pour ces valeurs. De nombreuses valeurs obtenues sont en dehors des bornes supérieures et inférieures de l'intervalle de référence calculé. Ceci représente 9/44 valeurs pour le pourcentage de neutrophiles, 8/44 valeurs pour le pourcentage d'éosinophiles, 2/44 valeurs pour le pourcentage de basophiles, 8/44 valeurs pour le pourcentage de lymphocytes et 17/44 valeurs pour le pourcentage de monocytes. Cependant, ces valeurs extérieures aux intervalles de référence restent proches de ceux-ci, et certaines d'entre elles sont comprises dans les intervalles de confiance à 90% des bornes de l'intervalle de référence. La lecture des frottis semble donc être globalement en accord avec les résultats obtenus par le calcul des intervalles de référence.

2.2.3.2 – Caractéristiques morphologiques des leucocytes chez l'alpaga

Toutes les photographies illustrant cette partie ont été prises par mes soins au laboratoire d'hématologie sur les lames en cours de lecture.

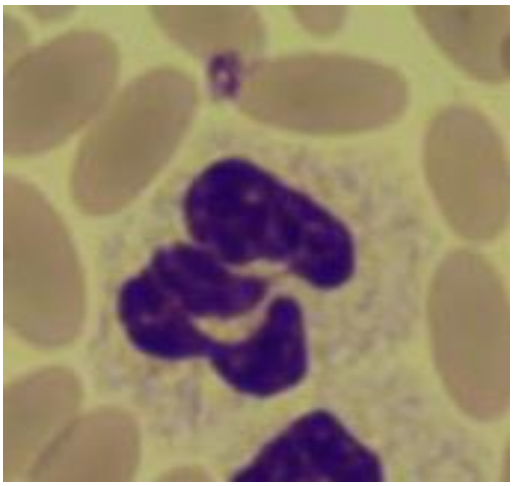
- **Caractéristiques morphologiques des neutrophiles**

Les neutrophiles représentent la sous-population granulocytaire et leucocytaire la plus importante, comme l'ont montré les calculs de la partie précédente. Ils sont caractérisés par le contenu de leur cytoplasme et la forme de leur noyau. En effet, de forme globalement circulaire, le cytoplasme des neutrophiles des alpagas contient des granulations de petite taille et peu colorables en coloration MGG, comme chez les autres espèces. La particularité du noyau des neutrophiles est la segmentation du noyau. En effet, les noyaux des neutrophiles sont polylobés : le nombre de lobes varient en général de 2 à 5 lobes, reliés par des ponts parfois très étroits de chromatine. La chromatine du noyau de ces neutrophiles est très dense et forme des lobes globalement quadrangulaires.

La photographie 16 ci-dessous représente un granulocyte neutrophile de morphologie classique. Sur cette photographie, on peut identifier la présence de petites granulations cytoplasmiques peu colorables et d'un noyau très dense comportant 3 lobes bien distincts.

Photographie 16 - Morphologie classique d'un granulocyte neutrophile d'alpaga

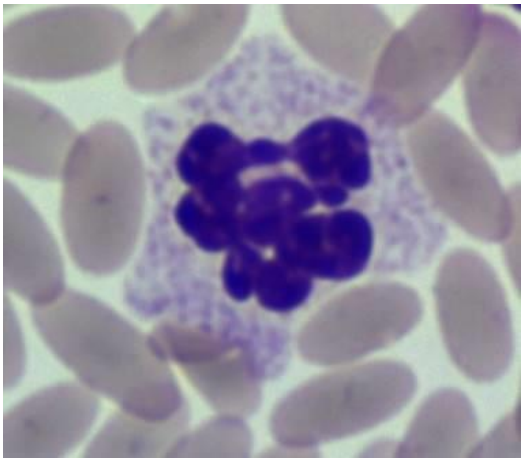
(Source : personnelle)

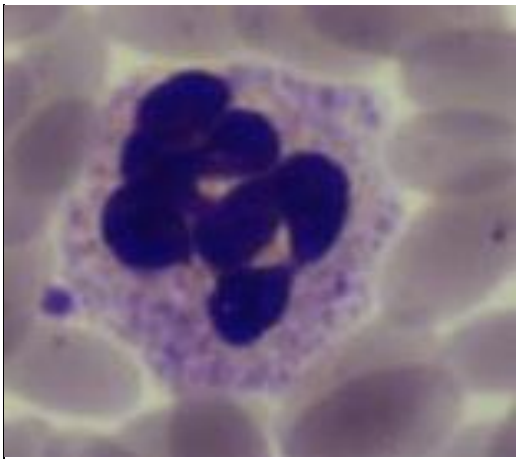


Il a été aussi observé sur les frottis sanguins des alpagas des noyaux hypersegmentés. Ont été considérés comme hypersegmentés, tous les noyaux de neutrophiles possédant au moins 6 lobes distincts. Les photographies 17 et 18 ci-dessous illustrent la notion d'hypersegmentation.

Photographies 17 et 18 - Neutrophiles possèdant un noyau hypersegmenté

(Source : personnelle)





Ces neutrophiles hypersegmentés ont représenté selon les individus entre 0 et 21% (soit 11/53 neutrophiles), avec une moyenne chez les mâles de 3,9% et chez les femelles de 6,7%.

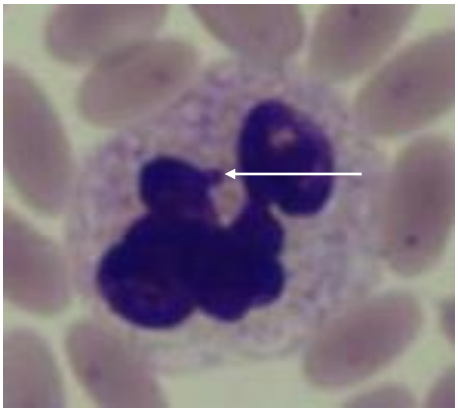
Chez les espèces domestiques classiques, l'observation de granulocytes neutrophiles jeunes dont le noyau n'est pas encore segmenté, aussi appelé « band cells » en anglais est décrite, et plus particulièrement dans un contexte inflammatoire. Aucun neutrophile de ce type n'a été observé sur les frottis sanguins des alpagas de l'étude.

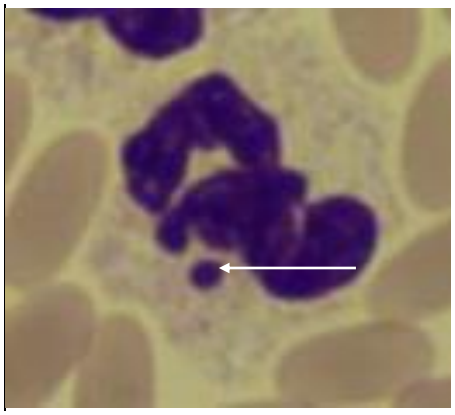
Par ailleurs, des corpuscules de Baar ont été observés sur les frottis sanguins de toutes les femelles alpagas de l'étude, en plus ou moins grand nombre. Ces formations chromatiniennes correspondent à la chromatine inactivée du chromosome X des femelles mammifères. Chez l'alpaga, le corpuscule de Baar prend la même forme que chez les autres espèces de mammifères domestiques, c'est-à-dire une petite masse chromatinienne de taille réduite par rapport aux lobes se détachant du noyau par un pont de chromatine très étroit.

Les photographies 19 et 20 ci-dessous désignent par une flèche les corpuscules de Baar observées chez les femelles alpagas.

Photographies 19 et 20 - Corpuscules de Baar présents sur les noyaux des neutrophiles chez des femelles alpagas

(Source : personnelle)



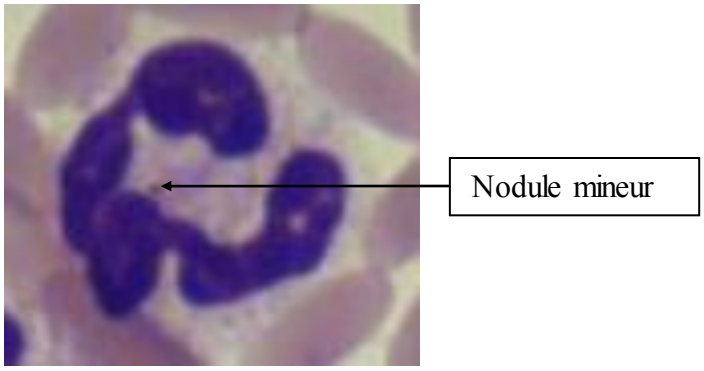


Ces corpuscules de Baar ont été observés sur 1,5% (1/69) à 30% (12/40) des noyaux des neutrophiles des femelles alpagas avec une moyenne globale de 12,1%. Ces pourcentages sont indicatifs, car ils ont été établis sur un nombre de neutrophiles totaux différent en fonction des individus.

Dans une étude menée sur la morphométrie des cellules sanguines du lama, des nodules nucléaires mineurs du même type que les corpuscules de Baar avaient été observés chez quelques individus mâles, sans consensus d'interprétation établi (Azwai *et al*., 2007). Trois nodules de chromatines de taille encore plus réduite que les corpuscules de Baar ont effectivement été observés chez trois mâles différents. La photographie 21 ci-dessous désigne par la flèche un de ces nodules mineurs observés chez un mâle alpaga.

Photographie 21 - Nodule mineur de chromatine observé sur le noyau d'un neutrophile chez un mâle alpaga

(Source : personnelle)

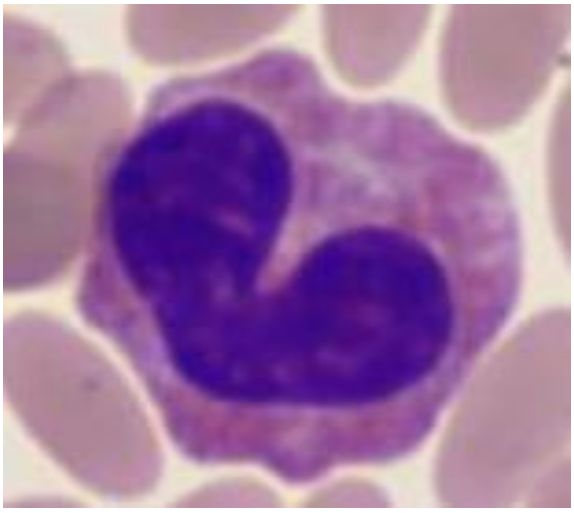


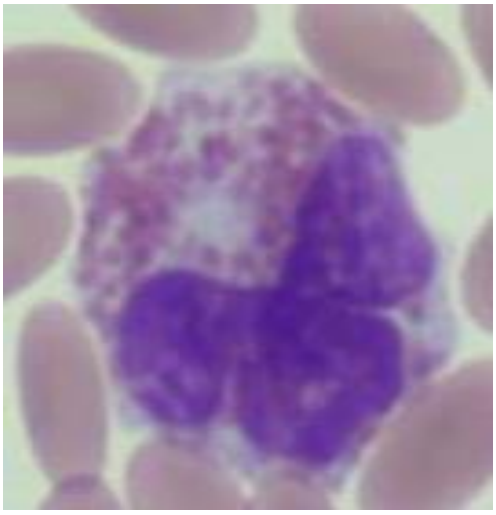
➢ Caractéristiques morphologiques des éosinophiles

Les granulocytes éosinophiles se placent à la seconde place des granulocytes les plus nombreux. Ils sont caractérisés par leurs granulations et la forme du noyau. Les granulocytes des alpagas sont de forme globalement ronde et leur cytoplasme contient de nombreuses granulations éosinophiles (qui se colorent en rose au MGG) de forme ovalaire, dont le diamètre semble supérieur à celui des granulations des neutrophiles. La chromatine du noyau des granulocytes éosinophiles des alpagas est condensée en mottes, la chromatine est dite « mottée ». On retrouve cette caractéristique chez les autres espèces domestiques. La forme du noyau est variable. Le plus souvent bilobé, des noyaux trilobés ou en forme de couronne ont été observés chez les alpagas. Les photographies 22 à 24 ci-dessous illustrent les différentes morphologies observées du granulocyte éosinophile chez l'alpaga.

Photographies 22 et 23 – Granulocytes éosinophiles à noyau bilobé (à gauche) et trilobé (à droite) chez un alpaga

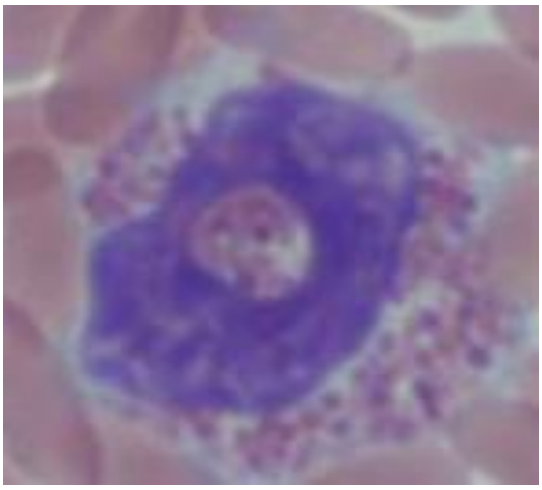
(Source : personnelle)





Photographie 24 – Granulocyte éosinophile à noyau en couronne chez un alpaga

(Source : personnelle)



La forme de noyau la plus observée durant la lecture des frottis est la forme bilobée. Selon les individus, la forme bilobée représente 15,4% (2/13) à 100% des noyaux des éosinophiles observés chez un individu avec une moyenne globale de 62,9%. Les formes trilobées et en couronne ont été aussi fréquemment observées, sur respectivement 35 et 19 frottis. Les formes trilobées sont absentes sur certains frottis et représentent 100% des noyaux des éosinophiles sur d'autres, avec une moyenne de 26,8% par individu. De même, la présence de forme en couronne est très variable d'un frottis à l'autre, avec une moyenne de 6,6% par individu. Des formes quadrilobés ont été observées sur 11 frottis avec entre 1 et 3 granulocytes neutrophiles concernés par individu.

Le noyau des granulocytes éosinophiles de l'alpaga peut donc prendre plusieurs formes, avec une prédominance pour la forme bilobée.

➢ Caractéristiques morphologiques des basophiles

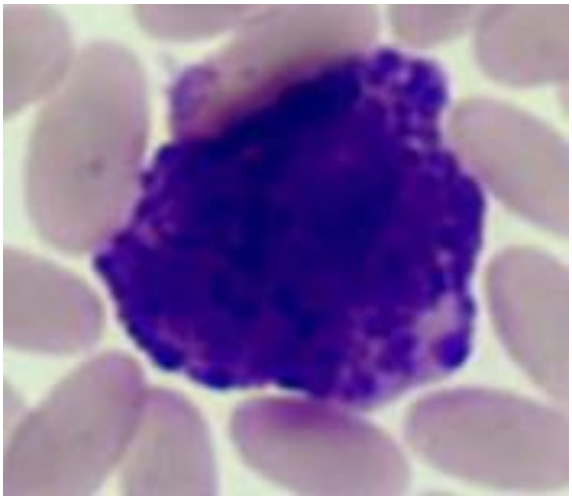
Les granulocytes basophiles sont les granulocytes les moins représentés. De forme globalement ronde, ils sont caractérisés principalement par les granulations contenues dans leur cytoplasme : chez l'alpaga, ce sont des granulations basophiles rondes de taille similaire à celles des granulocytes éosinophiles. Ces granulations sont abondantes et peuvent dans certains cas masquer le noyau, dont la forme n'est pas toujours nettement visible sur certains frottis.

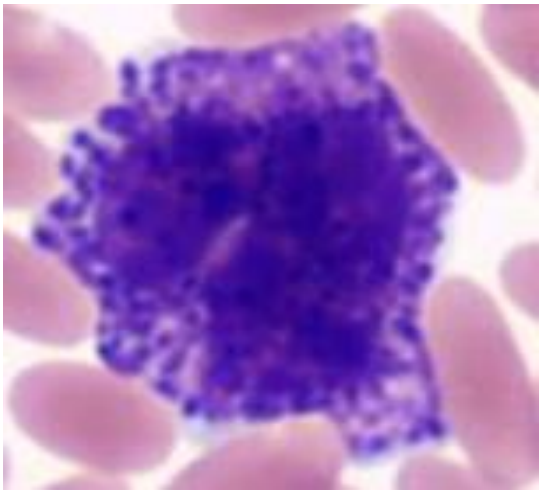
Les photographies 25 à 27 ci-après illustrent la morphologie des basophiles des alpagas décrite ci-dessus.

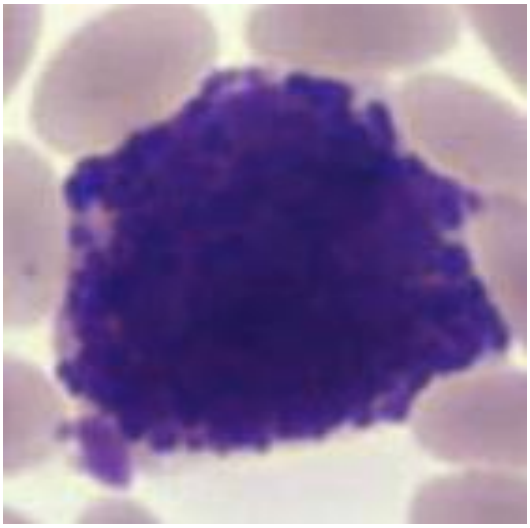
Des basophiles ont été observés sur 23 des 45 frottis analysés. Parmi ces 23 frottis, la forme du noyau d'un ou de plusieurs basophiles observés n'était pas visible car cachée par les granulations basophiles pour 8 d'entre eux,. Sur les 17 frottis pour lesquels on peut identifier la forme d'un noyau d'un basophile, les types de noyaux ont été comptabilisés. Sur les 18 basophiles à noyau identifiable observés, 16 possédaient un noyau bilobé et 2 un noyau trilobé.

Photographies 25, 26 et 27 – Granulocytes basophiles d'alpagas

(Source : personnelle)







➢ Caractéristiques morphologiques des lymphocytes

Les lymphocytes sont les plus petites cellules sanguines nucléées chez l'alpaga. Il s'agit de cellules rondes, dont le noyau est circulaire. Sur quelques lymphocytes ont été observés de petites encoches sur le noyau. On peut en distinguer trois catégories, morphologiquement distinctes :

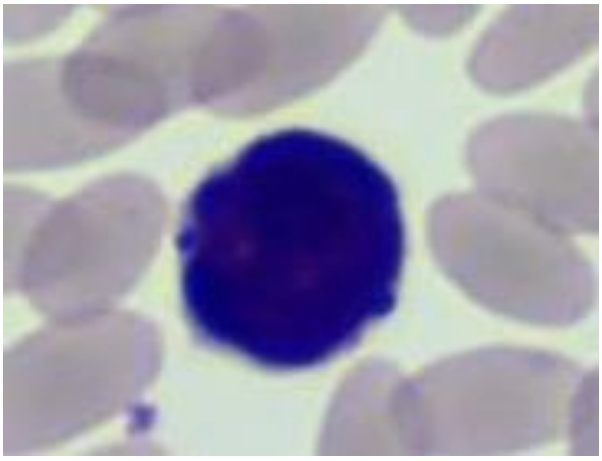
- Les petits lymphocytes, dont le noyau est très dense et le rapport nucléo-cytoplasmique très élevé, le cytoplasme de ces lymphocytes se limitant sur la plupart des cellules observées à une mince bande basophile à invisible autour du noyau.
- Les lymphocytes moyens, dont la densité du noyau est moins élevée et le rapport nucléo-cytoplasmique élevé, mais plus faible que celui des petits lymphocytes, la bande de cytoplasme autour du noyau étant clairement visible.
- Les grands lymphocytes, dont le noyau est le moins dense et le rapport nucléo-cytoplasmique le plus faible.

Pour ces trois sous types de cellules, la densité du noyau, l'intensité de coloration du cytoplasme et le rapport nucléo-cytoplasmique diminue avec la taille du lymphocyte.

Les photographies ci-dessous illustrent la morphologie des lymphocytes chez les alpagas.

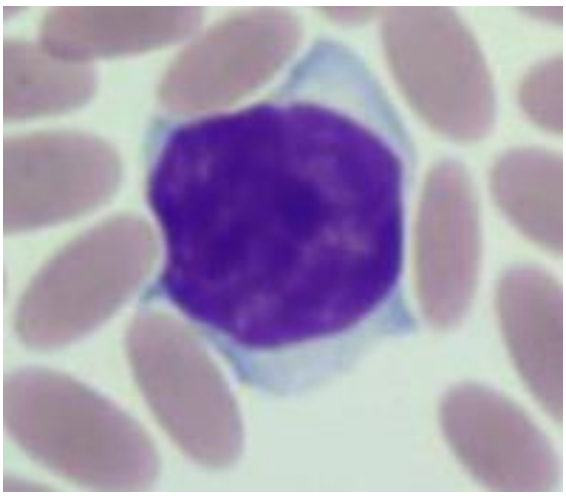
Photographie 28 – Petit lymphocyte à grains d'alpaga

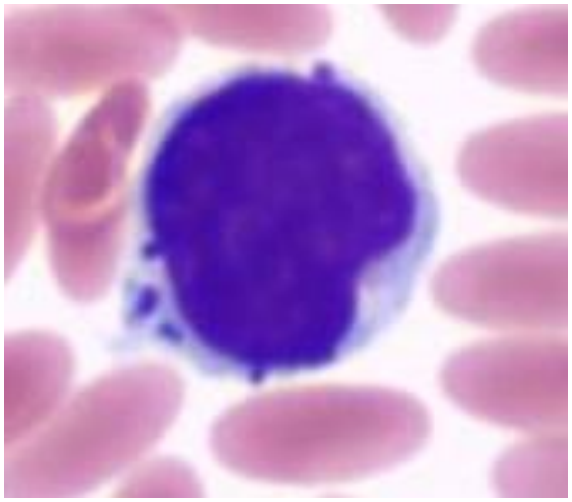
(Source : personnelle)



Photographies 29 et 30 – Lymphocytes moyens d'alpaga : sans grain (à gauche) et à grains (à droite)

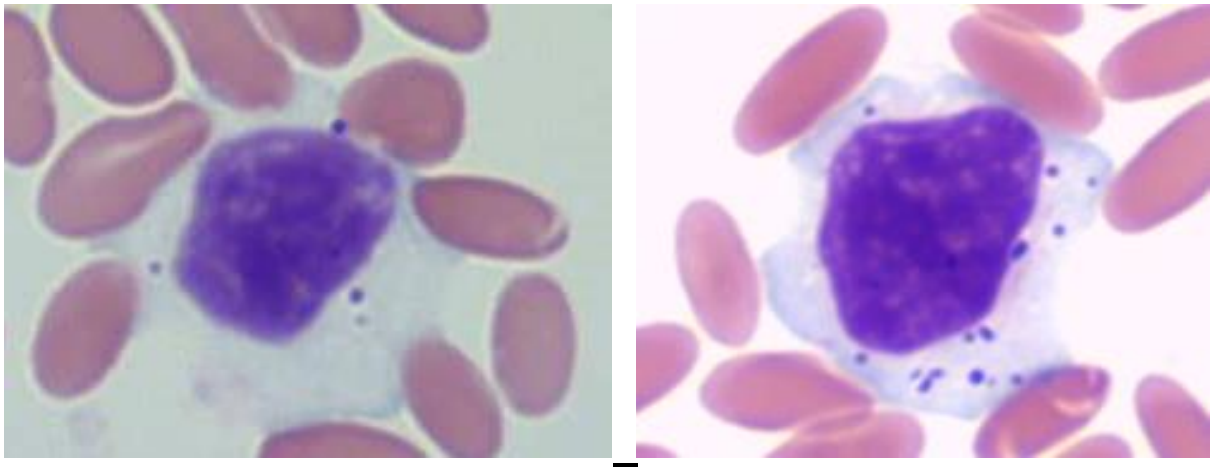
(Source : personnelle)





Photographies 31 et 32 – Grands lymphocytes à grains d'alpaga

(Source : personnelle)



Lors de l'observation des lymphocytes, des granulations basophiles ont été observées dans le cytoplasme de certains d'eux, dans toutes les sous catégories de lymphocytes. Le nombre de granulations était variable d'une granulation isolée à une dizaine de granulations réparties dans le cytoplasme.

Sur les 45 frottis observés, 28 des frottis comprenaient 1 ou plusieurs lymphocytes à grains. Ces lymphocytes à grains représentaient une minorité de la totalité des lymphocytes : entre 2,5% (1/40) et 33,3% (1/3), avec une moyenne de 12,3% des lymphocytes observés par individus. Les pourcentages sont indicatifs et non pas significatifs, étant donné la faiblesse du dénominateur.

Une grande diversité morphologie des lymphocytes a ainsi été observée sur les frottis sanguins d'alpagas réalisés.

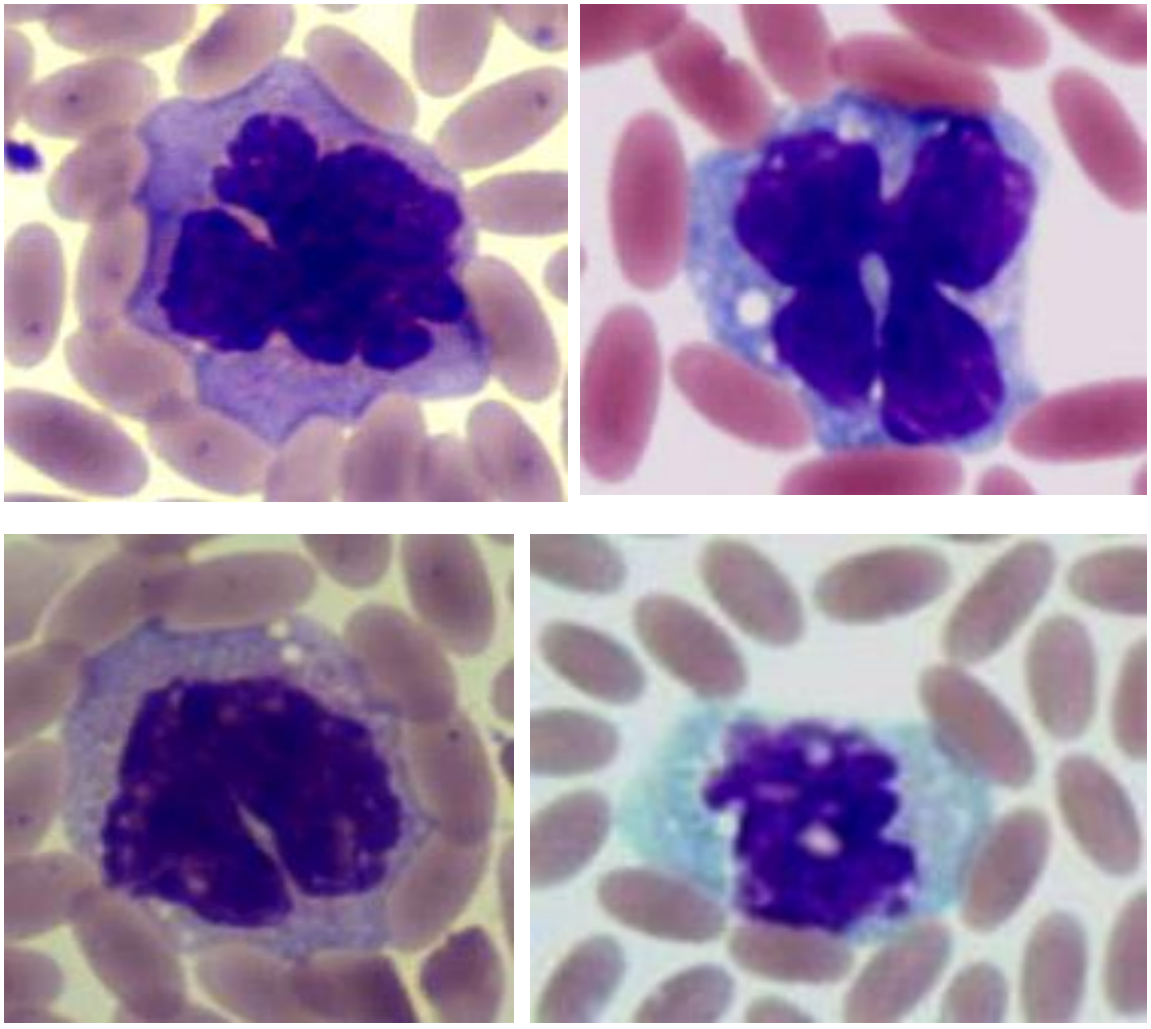
➢ Caractéristiques morphologiques des monocytes

Chez l'alpaga, les monocytes sont des cellules sanguines nucléées de grande taille caractérisées par l'aspect de leur noyau et les particularités de leur cytoplasme. En effet, le cytoplasme des monocytes ne présente pas une couleur uniforme, certaines zones sont plus ou moins basophiles : c'est un cytoplasme que l'on pourrait caractériser par une couleur « en ciel d'orage ». De plus, des vacuoles plus ou moins nombreuses y ont été observées. Quant au noyau, il est de même très caractéristique des monocytes : il peut prendre différentes formes mais ses contours sont toujours irréguliers et les « lobes » de ce noyau sont dessinés par des fentes cytoplasmiques qui plongent plus ou moins profondément dans le noyau. De même que le cytoplasme, la chromatine du noyau des monocytes est assez hétérogène.

Les photographies 33 à 36 ci-dessous illustrent les différentes formes nucléaires observées chez l'alpaga.

Photographies 33, 34, 35 et 36 – Monocytes observés chez l'alpaga

(Source : personnelle)



Ainsi la morphologie cellulaire des leucocytes observée sur les frottis sanguins colorés en MGG des alpagas est très similaire à celle décrite par la littérature chez le lama, et chez les mammifères domestiques d'intérêt (carnivores domestiques, ruminants, cheval).

2.2.3.3 – Caractéristiques de la lignée érythrocytaire chez l'alpaga

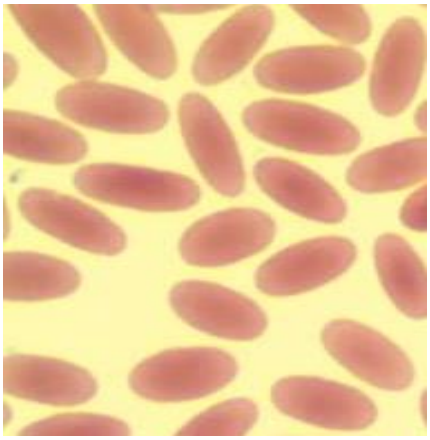
➢ Caractéristiques morphologiques des érythrocytes

La morphologie des érythrocytes des alpagas a pu être évaluée grâce à deux supports : la coloration en MGG et la coloration au bleu de Crésyl Brillant.

Contrairement à ce qui est connu chez les carnivores domestiques, les ruminants et le cheval, les hématies observées chez l'alpaga ont une morphologie bien différente, correspondant à celle décrite dans la littérature. En effet, sur les colorations en MGG, les hématies sont acidophiles et ont une forme ovalaire avec une densification de la coloration au centre, ce qui signifie que l'épaisseur y est augmentée. Les hématies observées prennent donc la forme de lentilles acidophiles ovalaires et bi-convexes, comme le montre la photographie 37-ci-dessous.

Photographie 37 – Hématies d'alpaga en coloration MGG

(Source : personnelle)

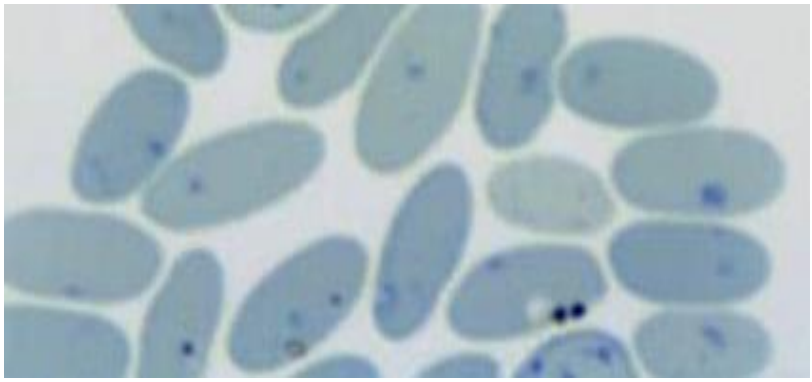


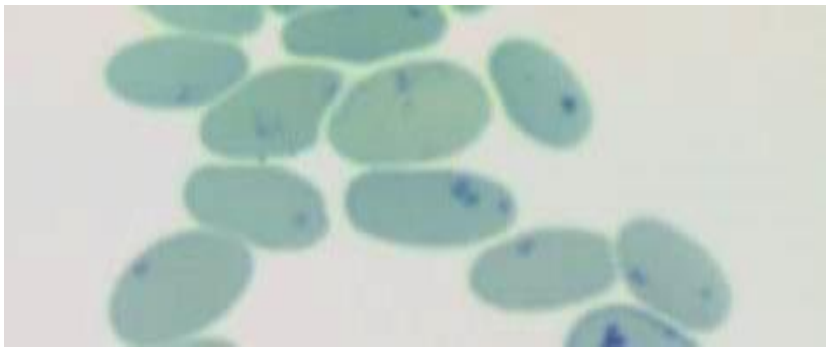
Cependant, une particularité des hématies non décrite dans la littérature a été mise en évidence grâce à l'observation combinée des hématies sur les lames colorées en MGG et au Bleu de Crésyl Brillant. En effet, sur toutes les lames colorées au Bleu de Crésyl Brillant, on observe dans toutes les hématies, une à plusieurs ponctuations basophiles, qui semblent proches de la membrane plasmique. Cette constatation a aussi été faite sur les lames colorées en MGG, dont la qualité de coloration était moins bonne, c'est-à-dire pour laquelle les hématies apparaissaient de couleur violacée, plutôt que rouge-orangé.

Les photographies 38 à 41 ci-après mettent bien en évidence la présence systématique de ces ponctuations basophiles.

Photographies 38 et 39 – Ponctuations basophiles dans des hématies d'alpagas colorées au bleu de Crésyl Brillant

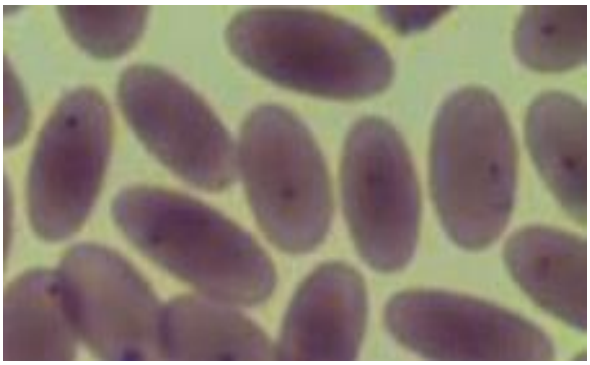
(Source : personnelle)

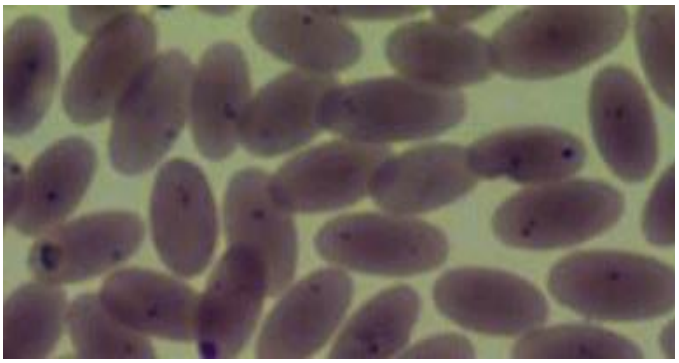




Photographies 40 et 41 – Ponctuations basophiles dans des hématies d'alpagas colorées par la technique de MGG

(Source : personnelle)



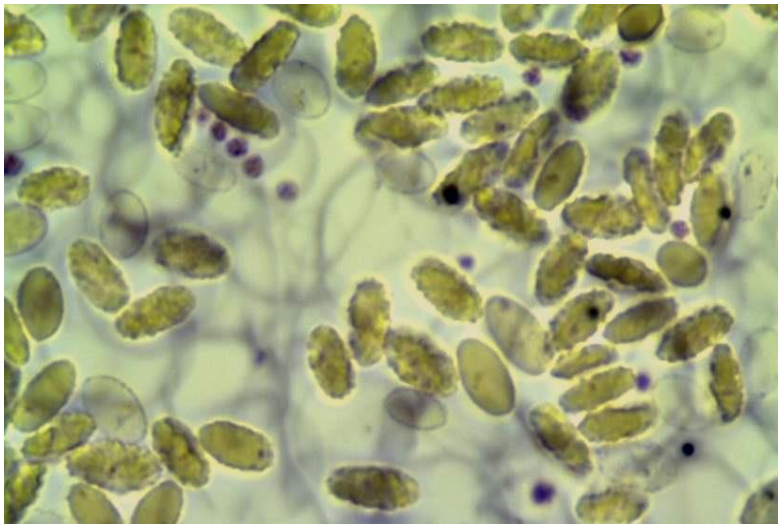


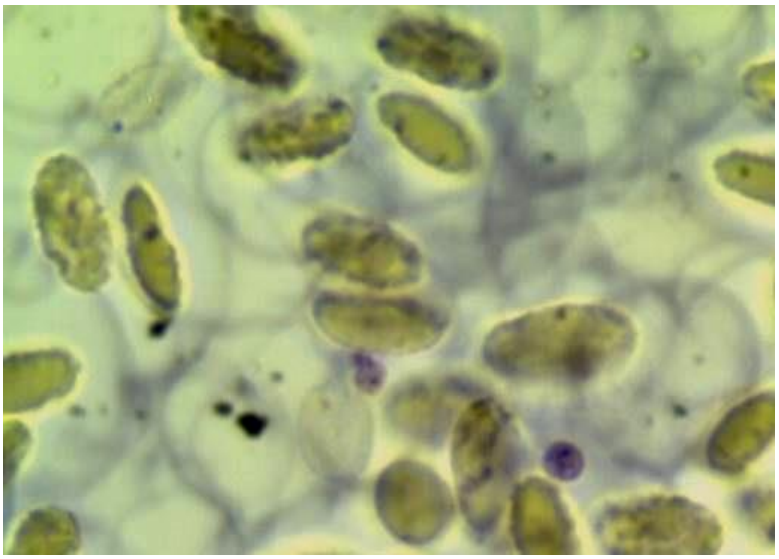
Afin de s'assurer que ces ponctuations se trouvent bien dans la cellule et non à la surface, comme le serait des corps de Heinz, un test a été réalisé sur un échantillon. Ce test a consisté en l'utilisation d'une lame pré-colorée commerciale appelée « Testsimplets® », pour l'observation des hématies. La coloration de la lame contient une combinaison de bleu de Méthylène et d'acétate de Crésyl violet. Au laboratoire d'hématologie de l'ENVA, le Dr Lagrange l'utilise pour l'observation fine des hématies et des réticulocytes, si la coloration au Bleu de Crésyl Brillant est insuffisante. Selon elle, cette lame permet de mettre en évidence les corps de Heinz de façon plus précise. Un échantillon de sang a été étalé sur cette lame afin de tester la nature de ces ponctuations basophiles.

Les photographies 42 et 43 ci-dessous représentent les résultats obtenus.

Photographies 42 et 43 – Hématies d'alpaga observées sur une lame « Testsimplets ® »

(Source : personnelle)





L'interprétation des seules photos est difficile, mais l'observation de la lame a permis de mettre en évidence que les ponctuations observées étaient bien intracellulaires et ne se détachaient pas de la cellule, tel un corps de Heinz. Sur les photographies ci-dessus, on retrouve cependant les ponctuations basophiles évoquées précédemment et la membrane cellulaire présente un aspect dentelé. Cet aspect dentelé semble crée sur cette lame par la présence de multiples granulations basophiles présentes directement sous la membrane des hématies.

Les hématies des alpagas présentent donc une forme particulière, elles sont ovalaires et biconvexes. La présence systématique de ponctuations basophiles plus ou moins nombreuses dans leur cytoplasme a été mise en évidence par la lecture concomitante des deux colorations réalisées. Aucune publication n'avait encore mentionné ce phénomène. Les possibilités d'interprétation de ces ponctuations seront discutées dans la partie suivante.

➢ Caractéristiques morphologiques des réticulocytes

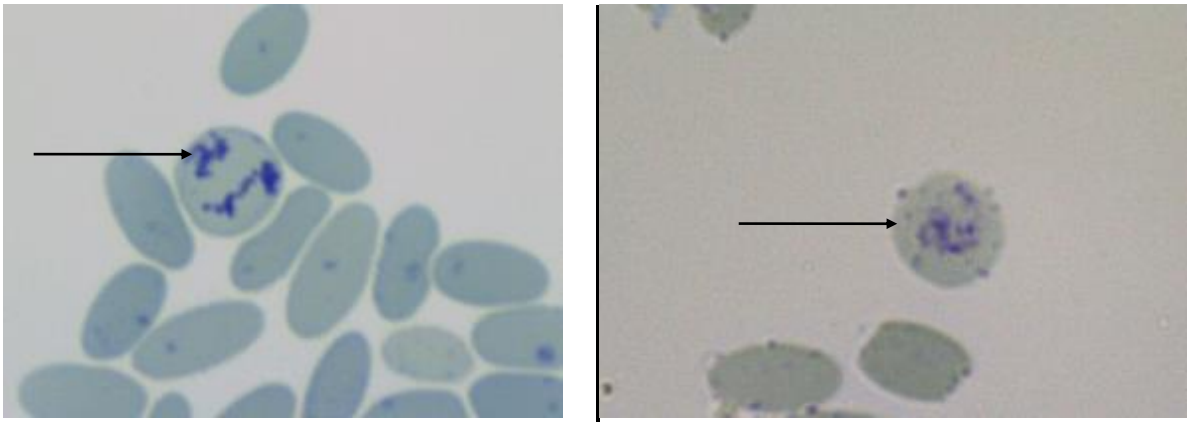
L'analyse des réticulocytes a été réalisée sur les lames colorées au bleu de Crésyl Brillant, à l'occasion du comptage réticulocytaire.

Tout d'abord, au contraire des ruminants et du Cheval, on peut observer des réticulocytes sur les frottis sanguins d'alpagas. L'hématie n'est donc pas délivrée dans le sang directement à l'état mature. Les réticulocytes observés étaient semblables dans leur morphologie à ceux observés chez le chien, c'est-à-dire que les réticulocytes étaient de forme circulaire, de plus grande taille que les hématies matures, présentant dans leur cytoplasme un réseau de ponctuations bleutées en coloration au Bleu de Crésyl Brillant.

Les photographies 44 et 45 ci-dessous illustrent la morphologie des réticulocytes de l'alpaga, désignés par les flèches noires

Photographies 44 et 45 – Réticulocytes observés chez l'alpaga

(Source : personnelle)



- **Détermination manuelle du pourcentage de réticulocytes et comparaison à l'intervalle de référence calculé**

Les comptages manuels de réticulocytes sur 1000 hématies pour chaque frottis ont permis de déterminer un pourcentage de réticulocytes parmi les hématies pour chaque lame. Les valeurs de réticulocytes comptés s'étalent entre 1 pour 1000 et 7 pour 1000 hématies, ce qui correspond à des pourcentages de réticulocytes entre 0,1% et 0,7% des hématies. Selon les calculs effectués avec le logiciel RefValAdv, la distribution des valeurs observées a une faible probabilité de suivre une loi normale. La médiane des pourcentages de réticulocytes comptés est de 3 réticulocytes pour 1000 hématies, soit 0,3%.

Pour rappel, le tableau 18 ci-dessous décrit les intervalles de référence calculés dans la partie précédente pour le pourcentage de réticulocytes.

Tableau 18– Rappel des intervalles de référence calculés pour le pourcentage de réticulocytes

Variable	Limite inférieure de l'intervalle de référence [IC 90%]	Limite supérieure de l'intervalle de référence [IC 90%]	Valeurs de référence	Valeur de P d'Anderson-Darling	Méthode utilisée
Réticulocytes (%)	**5,0** [4,7-5,4]	**13,2** [11,6-14,9]	45	0,426	Paramétrique
	5,0 [4,7-5,4]	**13,1** [11,5-15,0]			Robuste

Les valeurs obtenues par comptage manuelle des réticulocytes sont très éloignées de celles obtenues par comptage automatique par l'automate du laboratoire d'hématologie de l'ENVA. Les deux comptages ayant été réalisés sur les mêmes animaux, cette grande différence est inhérente à la méthode de comptage. Du fait de la faible proportion de réticulocytes à priori admise parmi la totalité des hématies et la distribution aléatoire des réticulocytes sur le frottis lors de l'étalement, l'hypothèse d'une moins bonne sensibilité du comptage manuel est à envisager.

En conclusion, l'analyse des frottis sanguins a permis de confirmer mais aussi d'apporter des éléments nouveaux de morphologie des cellules sanguines chez l'alpaga, ainsi que de confronter les résultats apportés par le comptage manuel et le comptage automatique.

2.2.4 – Tableau récapitulatif des résultats obtenus

Pour conclure l'analyse des résultats, le tableau 19 ci-dessous récapitule tous les intervalles de référence obtenus pour les variables biochimiques et hématologiques.

Tableau 19 – Tableau récapitulatif des intervalles de référence des variables hématologiques et biochimiques obtenus chez l'alpaga

Variable	Intervalle de référence
N.L. ($10^3/\mu L$)	**6,6 – 24,1** [a,b]
N.G. ($10^6/\mu L$)	**9,0 – 14,9** [a]
	8,9 – 14,9 [b]
HGB (g/dL)	**9,2 -16,3** [a]
	8,9 – 16,1 [b]
HCT auto (%)	**16,9 – 27,4** [a]
	16,6 – 27,1 [b]
VGM auto (fL)	**15,8 – 21,5** [a]
	15,7 – 21,5 [b]
TGMH (g)	**9,8 -11,5** [a]
	9,7 – 11,4 [b]
CCMH auto (g/dL)	**50,0 – 64,6** [a]
	49,9 – 64,5 [b]
HCT manu (%)	**22,4 – 35,3** [a]
	22,5 – 35,4 [b]
VGM manu (fL)	**21,6 – 28,4** [a]
	21,6 – 28,3 [b]
CCMH manu (g/dL)	**38,6 – 49,5** [a]
	38,4 -49,4 [b]
Numération Plaquettaire ($10^3/\mu L$)	**69,6 – 503,8** [a]
	70,6 – 504,0 [b]
RDW-SD (fL)	**15,1 – 20,1** [a,b]
RDW-CV (%)	**25,8 – 35,4** [a]
	25,7 – 35,4 [b]
Neutrophiles ($10^3/\mu L$)	**3,0 – 13,3** [a]
	2,7 – 13,0 [b]
Neutrophiles (%)	**46,8 – 78,2** [a]
	46,6 – 78,7 [b]
Lymphocytes ($10^3/\mu L$)	**0,5 – 5,6** [a]
	0,3 – 5,6 [b]
Lymphocytes (%)	**5,4 – 40,9** [a]
	4,9 – 40,4 [b]
Monocytes ($10^3/\mu L$)	**0,1 – 1,1** [a, b]
Monocytes (%)	**1,7 – 7,9** [a]
	1,6 – 7,8 [b]
Eosinophiles ($10^3/\mu L$)	**0,1 – 3,5** [a, b]
Eosinophiles (%)	**0 – 17,0** [a]
	0 – 16,6 [b]
Basophiles ($10^3/\mu L$)	**0 – 0,3** [a, b]
Basophiles (%)	**0,4 – 2,4** [a]
	0,3 – 2,5 [b]
Réticulocytes (%)	**5,0 – 12,9** [a]
	5,0 – 13,0 [b]
Réticulocytes ($10^6/\mu L$)	**0,5 -1,4** [a]
	0,4 – 1,3 [b]
Urée (g/L)	**0,2 – 0,5** [a, b]
Créatinine (mg/L)	**9,3 – 24,1** [a]
	9,1 – 23,6 [b]
Glucose (g/L)	**1,1 – 1,5** [a, b]
ASAT (UI/L)	**125,1 – 396** [a]
	124,9 – 397,5 [b]
CK (UI/L)	**43 – 753,3** [a]
	43 – 755,5 [b]
GGT (UI/L)	**5,5 – 31,7** [a]
	5,7 – 31,8 [b]

[a] : déterminé par la méthode paramètrique
[b] : déterminé par la méthode robuste

2.3 – Discussion

2.3.1 – Comparaison des résultats obtenus à ceux de la littérature

Dans cette partie, les résultats obtenus ont été confrontés à ceux de la littérature.

2.3.1.1 – Analyse critique des intervalles de référence des variables biochimiques

Le tableau 20 ci-dessous récapitule les résultats obtenus dans la littérature et rappelle ceux obtenus dans notre étude.

Tableau 20 – Tableau comparatif des intervalles de référence des variables biochimiques de l'alpaga dans la littérature et dans notre étude

	(Lassen *et al*., 1986)	(Fowler et Zinkl, 1989)	*Ouvrage de référence* (Fowler, 2010m)	(Simons *et al*., 1993)	(Dawson *et al*., 2011a)	***Notre étude***	
Type d'animaux	26 mâles et 38 femelles lamas considérés sains	83 lamas adultes des deux sexes, considérés sains	Aucune référence biblio-graphique	352 femelles alpagas (205 gestantes, 68 vides, 79 de statut inconnu)	74 alpagas adultes sains (46 mâles et 28 femelles)	43 alpagas adultes sains (19 mâles et 24 femelles)	
Glycémie (g/L)	0,97-1,53	0,74-1,54	0,74-1,54	Non déterminé	1,02-1,49	1,1-1,5 [a,b]	
Urée (g/L)	0,27-0,33	0,09-0,34	0,09 – 0,34	0,14-0,35	0,1-0,3	0,2-0,5 [a,b]	
Créatinine (mg/L)	19-27	14-32	14-32	14-32	10-24	9,3-24,1[a]	9,1-23,6[b]
ASAT (UI/L)	82-138	166-447	127-420	65-202	128-308	125,1 – 396 [a]	124,9– 397,5[b]
CK (UI/L)	Non déterminé	8-77	14-238	29-120	9-451	43-753,3[a]	43-755,5 [b]
GGT (UI/L)	15-25	9-29	3-28	11-38	8-35	5,5-31,7 [a]	5,5-31,8 [b]

[a] *: déterminé par la méthode paramètrique*
[b] *: déterminé par la méthode robuste*

Les résultats obtenus pour l'intervalle de référence de la glycémie dans notre étude sont cohérents avec ceux de l'étude menée sur des alpagas adultes sains par Dawson et al. en 2011 (Dawson *et al*., 2011a) ainsi qu'avec l'étude plus ancienne de 1986 de Lassen et al. menée sur une soixantaine de lamas (Lassen *et al*., 1986). Le seuil inférieur de notre intervalle de référence est plus élevé que celui proposé par l'ouvrage de référence (Fowler, 2010m) et par l'étude menée par Fowler en 1989 sur 83 lamas (Fowler et Zinkl, 1989). Cependant, selon les publications de R.J.Van Saun sur le métabolisme glucidique des alpagas, leur glycémie est plus élevée que celle des ruminants domestiques et s'apparente plus à celle des carnivores (Van Saun, 2006),(Van Saun, 2009). L'intervalle obtenu dans notre étude semble donc tout à fait cohérent.

Les résultats obtenus pour l'intervalle de référence de l'urémie sont cohérents avec les résultats obtenus par toutes les études présentées par le tableau précédent pour le seuil inférieur. Dans notre étude, le seuil supérieur à 0,5 g/L est plus élevé que celui proposé dans toutes les autres études. Une hypothèse pour expliquer cette différence pourrait résider dans l'alimentation des animaux, en supposant que les animaux prélevés pour notre étude reçoivent une alimentation plus riche en protéines, que les animaux prélevés dans les autres études, pour lesquelles la plupart sont en élevage extensif.

Les résultats obtenus pour l'intervalle de référence de la créatininémie sont très semblables avec les résultats obtenus par l'étude de Dawson et al. en 2011. En revanche, le seuil supérieur obtenu dans ces deux études est légèrement inférieur à celui obtenu dans les études plus anciennes. Cette différence est faible et ne pose pas de problème en termes de diagnostic. En effet, des valeurs pathologiques de créatininémie sont fréquemment nettement supérieures à la valeur seuil de l'intervalle de référence.

Les résultats obtenus pour l'intervalle de référence des ASAT sont assez différent dans toutes les études tout en restant dans une fourchette située entre 100 et 450 UI/L, dans laquelle se trouvent les valeurs obtenues par notre étude. Cependant, cette grande variabilité pose un problème en termes de diagnostic. En effet, une valeur élevée d'ASAT peut signifier une atteinte hépatique, musculaire ou cardiaque. Dans les études conduites chez l'alpaga (y compris la nôtre), la valeur seuil supérieure s'étale dans une fourchette de 202 UI/L à 447 UI/L. La fourchette est large et peut donc être à l'origine de faux-positifs, si on utilise à tort la valeur de 202 UI/L ou de faux-négatifs si on utilise à la valeur obtenue dans notre étude de 396 UI/L. En l'absence de données sur les variations de l'activité des ASAT chez l'alpaga en cas d'atteinte hépatique, musculaire ou cardiaque, la manipulation des résultats est délicate. Dans l'hypothèse où l'augmentation de leur activité est très nette en cas d'atteinte hépatique, musculaire ou cardiaque, alors l'interprétation des résultats serait simple malgré une fourchette de référence assez large.

Les résultats obtenus pour l'intervalle de référence de la variable CK dans notre étude sont très différents de tous les résultats obtenus dans les autres études, que ce soit sur des lamas ou des alpagas. En effet, notre valeur seuil inférieure (43 UI/L) est supérieure à toutes les autres valeurs inférieures (fourchette de 8 à 29 UI/L) et notre valeur supérieure (755 UI/L) semble très élevée par rapports aux autres (fourchette de 77 à 451 UI/L). Ceci pose un vrai problème en termes de diagnostic. Peut-on accorder une bonne confiance à une valeur supérieure si élevée ? Tout comme pour l'activité des ASAT, la question est de savoir quelle est la cinétique d'augmentation des CK. Selon Fowler, un décubitus prolongé ou la répétition d'injections intramusculaires peut faire augmenter modérément l'activité des CK. Seule une augmentation très franche au-delà de notre intervalle d'étude peut donc être interprétée.

Les résultats obtenus pour l'intervalle de référence de la variable GGT dans notre étude sont cohérents avec ceux des autres études et ne pose aucun problème en termes de diagnostic. En effet, la valeur seuil inférieure de notre étude (5UI/L) est comprise dans la fourchette de celle des autres études (3 à 15 UI/L) et il en est de même pour la valeur supérieure (32 UI/L pour notre étude dans une fourchette de 25 à 38 UI/L). Les valeurs obtenues dans notre étude sont très similaires à celles obtenues dans les autres études, que celles-ci portent sur des alpagas ou des lamas.

Ainsi, globalement les intervalles obtenus dans notre étude semblent en accord avec celles obtenues dans les autres études et principalement avec l'étude la plus récente de Dawson et al. en 2011 portant sur 74 alpagas. Cependant, une grande prudence est à accorder à la manipulation des résultats de l'activité des ASAT et des CK. Seule une augmentation très marquée de celles-ci est interprétable, une augmentation faible à modérée restant délicate à manipuler.

2.3.1.2 – Analyse critique des intervalles de référence des variables hématologiques

Le tableau 21 ci-dessous récapitule les résultats obtenus dans la littérature et rappelle ceux obtenus dans notre étude.

Tableau 21 - Tableau comparatif des intervalles de référence des variables hématologiques de l'alpaga dans la littérature et dans notre étude

	Ouvrage de référence (Fowler, 2010m)	(Hajduk, 1992)	(Dawson *et al*., 2011b)	***Notre étude***		
Type d'animaux	Aucune référence bibliographique	*29 alpagas agés de 10 à 18 mois (14 mâles et 16 femelles)*	*74 alpagas adultes (46 mâles et 28 femelles)*	*45 alpagas adultes sains (21 mâles et 24 femelles)*		
NG (10^6/mm^3)	9,6-17,2	11,2-14,4	9,4-18,1	9,0-14,9 [a]		8,9-14,9 [b]
Taux d'Hb (g/dL)	11,9-19,4	14,4-18,8	10,2-19,3	9,2 -16,3 [a]		8,9 – 16,1 [b]
HCT (%)	27-45	30-42	22-45	*Auto*	16,9 – 27,4 [a]	16,6 – 27,0 [b]
				Manuel	22,4 – 35,3 [a]	22,5 – 35,4 [b]
VGM (fL)	22,2-29,9	26-31	21-28	*Auto*	15,8 – 21,5 [a]	15,7 – 21,5 [b]
				Manuel	21,6 – 28,4 [a]	21,6 – 28,3 [b]
TGMH (pg)	10,1-12,7	-	9-12	9,8 -11,5 [a]		9,7 – 11,4 [b]
CCMH (g/dL)	39,3-46,8	Valeurs observées entre 38,2 et 55,7	42-49	*Auto*	50,0 – 64,6 [a]	49,9 – 64,5 [b]
				Manuel	38,6 – 49,5 [a]	38,4-49,4 [b]
NL (10^3/mm^3)	8-21,4	6,0-20,9	7,1-18,6	6,6 – 24,1 [a,b]		
Neutrophiles (10^3/mm^3)	3,4-15,6	2,0-13,3	3,5-12,1	3,0 – 13,3 [a]		2,7 – 13,0 [b]
Lymphocytes (10^3/mm^3)	0,7-5,4	2,1-6,8	1,5-4,7	0,5 – 5,6 [a]		0,3 – 5,6 [b]
Monocytes (10^3/mm^3)	0-1,0	0-0,6	0-0,9	0,1 – 1,1 [a, b]		
Eosinophiles (10^3/mm^3)	0,2-4,5	Mâle : 0-1,9 Femelle : 0-3,0	0,4-4,0	0,1 – 3,5 [a, b]		
Basophiles (10^3/mm^3)	0-3,0	Non recherché	0-0,1	0 – 0,3 [a, b]		
Plaquettes (10^3/mm^3)	200-600	Non recherché	220-947	69,6-503,8 [a]		70,6-504 [b]

[a] *: déterminé par la méthode paramétrique*
[b] *: déterminé par la méthode robuste*

L'étude d'Hadjduk en 1992 a été réalisée sans analyseur automatique, alors que celle de Dawson et al. en 2011 a été réalisée avec un analyseur automatique ADVIA 2120. Cependant, dans l'étude de Dawson et al., les valeurs d'hématocrite, de VGM et de CCMH ont été obtenues à partir de microhématocrites réalisés manuellement. En effet, les valeurs obtenues avec l'analyseur ADVIA 2010 sont considérées comme inexactes par l'auteur (Dawson *et al*., 2011b).

Les résultats d'intervalles de référence des variables « numération globulaire » et de « taux d'hémoglobine » obtenus dans notre étude sont globalement cohérents avec les normes trouvées dans la littérature avec une valeur seuil supérieure légèrement plus basse que dans les autres études. Une hypothèse pour expliquer cette différence pourrait être la différence d'altitude entre l'environnement des alpagas de notre étude et de ceux des autres études. En effet, les animaux vivant en latitude présente une polycythémie physiologique secondaire à l'hypoxie (Fowler, 2010m).

Dans notre étude, les alpagas vivent en plaine (l'altitude moyenne de la commune de Noisy sur Oise étant de 116m), alors que l'étude de Dawson a été réalisée dans l'état de New-York, avec une altitude moyenne de 305m et des points culminants à plus de 1000m. Cependant, en termes de diagnostic, cette différence ne pose aucun problème, car en cas d'anémie, ce sont les valeurs seuils inférieures qui sont les plus intéressantes.

Au cours des manipulations expérimentales, il a été remarqué que les valeurs de l'hématocrite calculé par l'analyseur et le micro-hématocrite réalisé manuellement étaient systématiquement très différentes. En effet, le micro-hématocrite manuel était systématiquement plus élevé que l'hématocrite automatique. Le choix a donc été fait de calculer des intervalles de référence pour chacun d'eux, ainsi que pour les variables « VGM » et « TCMH », qui dépendent de la valeur de l'hématocrite. Comme évoqué précédemment, cette même constatation avait été faite par Dawson et al. en 2011. Les intervalles obtenus dans notre étude pour les variables « hématocrite manuel », « VGM manuel » et « TCMH manuel » sont très cohérents avec les valeurs trouvées dans la bibliographie, aussi issues de microhématocrites manuels. En ce qui concerne les variables automatiques, aucune comparaison n'est possible car les méthodes utilisées sont différentes. Il semble que l'on puisse accorder une bonne confiance dans l'utilisation des intervalles de référence de notre étude pour les variables « hématocrite manuel », « VGM manuel » et « TCMH manuel ». Cependant, la question, qui découle de l'observation de cette différence entre l'hématocrite manuelle et celui de l'analyseur est de savoir ce qui pourrait l'expliquer. Pour en savoir plus, il aurait été intéressant de comparer les résultats de l'analyseur et de micro-hématocrite sur des sangs d'animaux domestiques, afin de savoir si l'erreur est systématique ou inhérente à une particularité des globules rouges de l'alpaga. Selon le Dr Isabelle Lagrange, une telle différence est déjà constatée au laboratoire de l'ENVA pour les espèces à globules rouges nucléées (oiseaux, reptiles). Il y aurait-il donc un impact de la forme particulières des globules rouges d'alpagas qui impacterait une seule des deux méthodes de mesures ? Une explication peut résider dans le fait que l'hématocrite automatique n'est pas mesuré mais calculé en fonction du VGM, qui lui est mesuré et du nombre de globules rouges. L'hypothèse principale est donc que la forme ovalaire des hématies d'alpagas perturberait la mesure du VGM et donc le calcul de l'hématocrite. Ceci expliquerait pourquoi la méthode automatique est impactée par la morphologie érythrocytaire et non la méthode manuelle. De la même façon, la question se pose légitimement pour les comptages réticulocytaires. En effet les valeurs de comptages manuelles sont très différentes des valeurs de comptage automatique. Cependant les réticulocytes d'alpagas semblent morphologiquement proches de ceux des carnivores domestiques. La présence des granulations basophiles mise en évidence dans les hématies matures perturbent-elles le décompte des réticulocytes ?

Les résultats d'intervalles de référence obtenus pour le comptage leucocytaire et pour tous les comptages des types leucocytaires sont cohérents avec les résultats obtenus dans la littérature. Pour le comptage des basophiles (300 /mm^3), la valeur supérieure de l'étude est semblable à celles de l'étude de Dawson et al. de 2011 (100/mm^3) et très différente de celle proposée dans un ouvrage de référence qui va jusque 3000 basophiles par mm^3. Cependant l'absence d'origine des résultats de cet ouvrage empêche d'émettre quelque hypothèse que ce soit, quant à cette différence. La lecture des frottis était globalement en accord avec les résultats obtenus par le calcul des intervalles de référence. Un comptage cellulaire sur plus de leucocytes (200 par exemple) aurait probablement permis d'augmenter la précision de la formule leucocytaire manuelle.

Concernant la numération plaquettaire, la valeur seuil supérieure obtenue dans notre étude est dans la fourchette des résultats obtenus dans la bibliographie, alors que la valeur seuil inférieure (70000/mm^3) est très inférieure à la fourchette obtenue dans la bibliographie (200 à 220 000/mm^3). Avec la réserve de la présence d'un biais à l'origine d'une sous-estimation des plaquettes dans les échantillons de notre étude, on peut se poser la question de la pertinence des données publiées dans la littérature. En effet, sur les deux publications disponibles, l'une ne donne aucun détail sur la méthode et la population de référence et l'autre donne des résultats avec une très grande amplitude pour l'intervalle de référence, par comparaison avec nos résultats. Afin de consolider notre intervalle de référence, il serait intéressant de prélever d'autres animaux pour réaliser d'autres numérations plaquettaires.

Le tableau 22 ci-dessous récapitule les conclusions de l'analyse critique de tous les résultats de notre étude, issue de la comparaison aux résultats de la bibliographie.

Tableau 22 – Analyse critique des intervalles de référence obtenus dans l'étude

Intervalle concerné	Cohérence avec les autres études
Glycémie (g/L)	Oui
Urée (g/L)	Oui
Créatinine (mg/L)	Oui
ASAT (UI/L)	Non, pour la valeur supérieure
CK (UI/L)	Non, pour la valeur supérieure
GGT (UI/L)	Oui
NG (10^6/mm^3)	Oui
Taux d'Hb (g/dL)	Oui
HCT (%)	Oui, pour la variable manuelle
VGM (fL)	Oui, pour la variable manuelle
TGMH (pg)	Oui
CCMH (g/dL)	Oui, pour la variable manuelle
NL (10^3/mm^3)	Oui
Neutrophiles (10^3/mm^3)	Oui
Lymphocytes (10^3/mm^3)	Oui
Monocytes (10^3/mm^3)	Oui
Eosinophiles (10^3/mm^3)	Oui
Basophiles (10^3/mm^3)	Oui
Plaquettes (10^3/mm^3)	Non pour la valeur inférieure

2.3.1.3 – Analyse critique des résultats de morphologie cellulaire sanguine

- ***Morphologie cellulaire de la lignée blanche***

Les résultats de morphologie cellulaire de notre étude sont cohérents avec les résultats de la bibliographie concernant la morphologie cellulaire des leucocytes des lamas.

Cependant, concernant la morphologie nucléaire des granulocytes éosinophiles, l'existence des noyaux en forme de fer à cheval n'apparaît pas dans la partie « Résultats ». Ceci est dû à la frontière souvent très mince à la lecture des lames entre le noyau bilobé, donc mature et le noyau en forme de « fer à cheval », donc immature. De ce fait, ces deux types de noyaux sont réunis dans la même catégorie. La comparaison des pourcentages de type nucléaire entre notre étude et la bibliographie n'est donc pas réalisable. Le pourcentage de 6,6% de noyaux en forme de « doughnuts » observé dans notre étude est quant à lui très semblable à celui de la littérature (6,5%).

- ***Morphologie cellulaire de la lignée rouge***

L'observation des globules rouges et des réticulocytes a conduit à des résultats bien différents de ceux trouvés dans la littérature.

Bien entendu, la morphologie cellulaire « globale » des érythrocytes et des réticulocytes est similaire à celle des lamas décrite dans la partie bibliographique. Cependant, quelques points restent discutables.

Tout d'abord, à la coloration au bleu de Crésyl Brillant, aucun anneau de Cabot n'a été observé au cours de notre étude. Si uniquement 1000 hématies ont été comptées sur chaque lame, la totalité des lames ont été pourtant balayés à la recherche de ces anneaux. La question qui se pose est de savoir si ces anneaux sont absents chez l'alpaga ou si l'intensité de la coloration n'a pas permis de les mettre en évidence. Selon les recommandations du laboratoire RAL, il faut incuber le mélange sang-colorant 15 minutes à 37°C au bain-marie, ce qui n'est pas fait à l'ENVA. Le mélange sang-colorant repose 30 minutes à température ambiante. Une nouvelle étude avec les recommandations du laboratoire RAL pour la coloration au Bleu de Crésyl Brillant serait intéressante, afin de savoir si dans ces conditions on peut ou non observer des anneaux de Cabot.

Enfin, ont été observés dans toutes les hématies et avec les deux colorations de l'étude, la présence de ponctuations basophiles sous-membranaires, qui semblaient systématiques. Aucune donnée bibliographique n'est actuellement disponible sur un tel type de structure systématique dans les hématies des alpagas. Un contact a été pris avec le Professeur Trumel, responsable du laboratoire d'hématologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, *via* le Dr. Isabelle Lagrange, quant à ces structures. Plusieurs hypothèses ont été émises quant à leur nature. Elles pourraient être des résidus d'ADN dans les globules rouges, aussi appelés « basophilic stippling » déjà connus chez les bovins. Elles pourraient être aussi des corps de Heinz ou de Pappenheimer. Ces derniers correspondent à des inclusions riches en fer et se colorent en vert à la coloration de Perls. Enfin, l'hypothèse d'un portage sain de mycoplasmes dans les globules rouges d'alpaga, est également envisageable (Tornquist *et al*., 2010). Afin de déterminer la nature des ponctuations découvertes, il est prévu de réaliser de nouveaux prélèvements sanguins. Ces échantillons permettront la réalisation d'une microscopie électronique à balayage pour connaitre la structure 3D de ces ponctuations, d'une coloration de Perls pour vérifier l'hypothèse des corps de Pappenheimer ainsi que d'une PCR mycoplasmose pour tester l'hypothèse d'un portage sain.

Ainsi, si dans leur globalité, les résultats de l'étude sont cohérents avec ceux trouvés dans littérature, d'autres sont différents. Des travaux sont en cours pour compléter les résultats de morphologie cellulaire. De nouveaux travaux pourraient être entrepris pour consolider certains intervalles de référence très différents de ceux de la littérature (comme la numération plaquettaire) ou pour tester nos résultats (comme l'absence d'anneaux de Cabot sur les frottis de notre étude).

2.3.2 – Analyse critique et limites du protocole utilisé

2.3.2.1 Limites liées à la taille de l'échantillon

L'échantillon utilisé dans cette étude est de 44 animaux pour les analyses hématologiques et de 43 animaux pour les analyses biochimiques. Selon la bibliographie, aucun intervalle de référence ne peut être calculé en deçà de 20 individus, mais la précision augmente avec la taille de l'échantillon. L'idéal aurait été de pouvoir atteindre le seuil des 120 animaux inclus afin de pouvoir utiliser la méthode de référence : la méthode non paramétrique. Cependant, plusieurs contraintes liées au but de l'étude expliquent que la taille de l'échantillon soit restreinte.

En effet, le but étant de créer une base de données à partir des automates utilisés à l'ENVA, les échantillons devaient nécessairement être analysés à l'ENVA, dans la journée du prélèvement. Ceci a restreint de manière drastique la zone géographique de potentiels élevages candidats et donc le nombre d'animaux potentiels : il y a uniquement deux élevages dans un secteur d'une heure et demi autour de Paris, celui de Fréderic Henry et un second bien plus petit à proximité de Rambouillet. Du fait du nombre important d'animaux chez Fréderic Henry, il a été décidé de travailler sur ses animaux uniquement, d'autant plus que cet éleveur emmène très régulièrement des animaux à l'ENVA. Pour environ 25 prélèvements, il fallait compter environ 4 à 5h de laboratoire afin de lancer les analyses biochimiques et la numération formule et d'étaler et colorer tous les frottis.

Du fait des contraintes d'âge et du stade de gestation des animaux, à chaque séance de prélèvement, le nombre de candidats à échantillonner était restreint. Il aurait été intéressant de mener l'étude sur une durée plus longue ou avec une plus grande fréquence de séances de prélèvement afin d'obtenir plus d'animaux.

Le petit nombre d'animaux de l'étude a malgré tout permis d'obtenir des résultats globalement cohérents avec ceux de la littérature. Cependant, une plus grande précision pourrait être apportée à ces derniers avec un plus grand nombre d'animaux, notamment par la méthode non paramétrique de référence.

2.3.2.2 Limites liées à la méthode d'échantillonnage

Comme évoqué précédemment, les animaux d'un seul élevage ont été utilisés pour cette étude. Ceci pose un problème de représentativité de l'échantillon. La question de la population cible se pose donc. Peut-on considérer que l'échantillon des alpagas de l'étude issu d'un unique élevage est représentatif de tous les alpagas du territoire français ? Si, non, de quelle population est-il représentatif ? Evidemment, on ne peut pas considérer que l'échantillon soit représentatif de tous les alpagas du territoire français. Cependant, on peut supposer qu'il soit à minima représentatif des alpagas adultes apparemment sains mâles, femelles non gestantes, femelles gestantes de moins de 7 mois ou allaitant depuis plus de 2 mois, vivant en France en climat tempéré, dans des conditions d'élevage similaires à ceux de Fréderic Henry.

De plus, dans l'élevage de l'étude, à chaque séance de prélèvements, tous les animaux susceptibles d'être inclus dans l'étude ont été prélevés (hormis les quelques animaux non manipulables). En effet, à la première séance : tous les mâles ont été prélevés et les quelques femelles peu avancées en gestation. A la seconde séance de prélèvements, toutes les femelles manipulables ont été prélevées. A la dernière séance de prélèvements, deux nouveaux mâles et une nouvelle femelle (achats récents), ainsi que les seules deux femelles vides (les autres étant toutes à un stade avancé de gestation) ont été prélevés. De ce fait, les animaux n'ont pas été prélevés « au hasard », ce qui pose aussi un problème de représentativité de l'échantillon. Malheureusement, laisser place au hasard était impossible, du fait des contraintes de l'étude et du petit nombre d'animaux disponibles.

2.3.2.3 Limites liées à la réalisation des analyses

Lors de la réalisation des analyses hématologiques et biochimiques, un analyseur unique a été utilisé pour chaque type d'analyse. Le but de l'étude étant d'établir une base de référence pour l'ENVA, il apparait logique d'utiliser uniquement les analyseurs présents dans les laboratoires de l'école. De plus, de manière rigoureuse, une base de valeurs de référence est valable uniquement pour l'analyseur utilisé dans l'étude menant à l'établissement de cette base. L'utilisation de la base de données créée dans cette étude est donc théoriquement à restreindre aux analyses réalisées dans les laboratoires de l'ENVA. L'extrapolation des résultats à d'autres analyseurs doit se faire avec prudence.

De plus, toutes les lames hématologiques ont été lues par mes soins. Le manque d'expérience dans la lecture des lames peut donc avoir été à l'origine, malgré la rigueur de lecture, d'erreurs ou d'omissions d'éléments importants sur les lames. Cependant, une unique personne ayant lue les lames assure une cohérence entre les différentes lectures.

2.3.3 – Utilisation de la base de données créée : intérêts et limites

Si la base de données créée présente des imperfections en termes de précision et représentativité de l'échantillon, elle reste néanmoins un premier outil qui pourra être utilisé par l'ENVA pour l'interprétation des analyses biochimiques et hématologiques des alpagas hospitalisés. La majorité des alpagas hospitalisés à l'ENVA provenant de l'élevage d'étude, la base de données créée s'adapte à son utilisation au sein de l'établissement. Une plus grande méfiance devra être accordée lors d'extrapolations à d'autres élevages.

Pour poursuivre ces travaux, l'idéal serait de pouvoir affiner ces valeurs en entreprenant un travail sur plusieurs années permettant de prélever le minima requis de 120 alpagas dans plusieurs élevages, en prélevant les sujets au hasard, afin de pouvoir utiliser la méthode de référence sur un échantillon plus représentatif.

CONCLUSION

L'élevage de l'alpaga, s'il est encore peu développé en France et considéré comme exotique, est émergent. Cependant, sa nouvelle popularité en tant qu'animal de compagnie laisse à supposer que les vétérinaires y seront de plus en plus couramment confrontés.

La première partie bibliographique de ce travail de thèse est une synthèse des connaissances de bases à maitriser pour un vétérinaire avant d'aborder une consultation d'un alpaga malade. Elle aborde aussi bien les modalités zootechniques de l'élevage de cet animal, que les particularités physiologiques à connaitre de cet animal. Elle expose les modalités de l'examen clinique de base, les dominantes pathologiques de cette espèce, ainsi que les particularités de la technique de ponction veineuse. En effet, l'alpaga ne possédant pas de sillon jugulaire, la technique de véniponction est spécifique des camélidés.

La seconde partie est expérimentale et relate le travail effectué afin d'obtenir une base de données pour les valeurs de référence des variables hématologiques et biochimiques de l'alpaga, ainsi que pour la morphologie cellulaire sanguine. Cette étude est la première étude européenne disponible sur le sujet. Elle présente des imperfections liées aux objectifs de l'étude, mais la majorité des résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans la littérature extra-européenne et pourront être utilisés par l'ENVA pour l'interprétation des analyses sanguines des alpagas hospitalisés.

Cette étude est un premier outil, qui ne demande qu'à être amélioré et complété. Actuellement, des travaux complémentaires concernant la morphologie cellulaire des hématies matures sont en cours. Il serait intéressant à l'avenir de pouvoir reprendre cette étude en augmentant la taille et la représentativité de l'échantillon utilisé ou de la compléter en ajoutant de nouveaux paramètres biochimiques.

BIBLIOGRAPHIE

ACHARD D. Exploration des affections hépatiques chez la vache laitière. 2005, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 104 p.

ADAMS GP. La thériogénologie chez les lamas et les alpagas. *Grands animaux - Rondes cliniques*. 2007, **7**.

AFLA. Association française lamas et alpagas [En ligne]. 2014,. [http://www.lamas-alpagas.org/] (consulté le 11/8/14).

ANDERSON DE. Uterine Torsion and Cesarean Section in Llamas and Alpacas. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*. 2009, **25**, 523-538.

Arrêté du 11 août 2006 fixant la liste des espèces, races ou variétés d'animaux domestiques Legifrance [En ligne] . *Legifrance*. 2006, [http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000789087] (consulté le 18/8/14).

Association Alpaga Developpement [En ligne] . 2014,. [http://www.alpaga-developpement.org/] (consulté le 17/8/14).

Association ALPALAINE [En ligne] . 2012,. [http://alpalaine.free.fr/] (consulté le 17/8/14).

Association Française Lamas Alpagas | Gestion de l'habitat [En ligne] . *AFLA - Assoc. Fr. Lamas Alpagas*. 2014,. [http://www.lamas-alpagas.org/elevage-lamas-alpagas-gestion-habitat.html] (consulté le 18/8/14).

AZWAI SM., ABDOUSLAM OE., AL-BASSAM LS., DAWEK A., MAHDI A., AL-IZZI SAL. Morphological characteristics of blood cells in clinically normal adult llamas (Lama glama). *Vet. Arh.*. 2007, **77**, 69-79.

AZZOPARDI M. Contribution à l'ostéologie et à l'imagerie médicale de l'Alpaga «Vicugna pacos ». 2012, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 268 p.

BROWN BW. A review on reproduction in South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.*. 2000, **58**, 169-195.

BURTON S., ROBINSON TF., ROEDER BL., JOHNSTON NP., LATORRE EV., REYES SB., et al. Body condition and blood metabolite characterization of alpaca (Lama pacos) three months prepartum and offspring three months postpartum. *Small Rumin. Res.*. 2003, **48**, 69-76.

CEBRA C., ANDERSON DE., VAN SAUN RJ., JOHNSON WL. Nutritional diseases, *in: Llama and Alpaca Care: Medicine, Surgery, Reproduction, Nutrition, and Herd Health*. 2014,.

CEBRA CK. Disorders of Carbohydrate or Lipid Metabolism in Camelids. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*. 2009, **25**, 339-352.

CELESTINO O. Stratégies alimentaires dans les Andes. *J. Anthropol. Assoc. Fr. Anthropol.*. 1998, 83–104.

Commission économique des Nations Unies pour l'Europe *Norme CEE - ONU : Viande de lama/alpaga: carcasses et découpes*. 2008, New-York et Genève.

CORDONNIER N., Chateau-Joubert, Huet, Laloy, Reyes-Gomez Techniques en anatomo-cytopathologie et hématologie vétérinaires. 2014,.

CORDONNIER N., FONTAINE J-J. Histologie - Hématologie. 2005,.

CRISTOFANELLI S., ANTONINI M., TORRES D., POLIDORI P., RENIERI C. Meat and carcass quality from Peruvian llama (Lama glama) and alpaca (Lama pacos). *Meat Sci.*. 2004, **66**, 589-593.

DAWSON DR., DEFRANCISCO RJ., MIX SD., STOKOL T. Reference intervals for biochemical analytes in serum and heparinized plasma and serum protein fractions in adult alpacas (Vicugna pacos). *Vet. Clin. Pathol.*. 2011a, **40**, 538-548.

DAWSON DR., DEFRANCISCO RJ., STOKOL T. Reference intervals for hematologic and coagulation tests in adult alpacas (Vicugna pacos). *Vet. Clin. Pathol.*. 2011b, **40**, 504-512.

FOWLER ME. General Biology and Evolution, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010a,. Wiley-Blackwell, p. 3-16.

FOWLER ME. Integumentary System, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010b,. Wiley - Blackwell.

FOWLER ME. Infectious Diseases, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010c,. Wiley - Blackwell.

FOWLER ME. Reproduction, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010d,. Wiley - Blackwell.

FOWLER ME. Restraint and Handling, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010e,. Wiley - Blackwell.

FOWLER ME. Clinical Diagnosis : Examination and Procedures, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010f,. Wiley-Blackwell.

FOWLER ME. Parasites, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010g,. Wiley-Blackwell.

FOWLER ME. Multisystem disorders, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010h,. Wiley - Blackwell.

FOWLER ME. Digestive System, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010i,. Wiley-Blackwell.

FOWLER ME. Cardiovascular System, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010j,. Wiley-Blackwell.

FOWLER ME. Respiratory System, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010k,. Wiley - Blackwell.

FOWLER ME. Urinary System, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010l,. Wiley - Blackwell.

FOWLER ME. Hemic and Lymphatic systems, *in: Medicine and Surgery of Camelids, 3rd Edition*. 2010m,. Wiley-Blackwell, p. 407-422.

FOWLER ME., ZINKL JG. Reference values for hematologic and serum biochemical in llamas (Lama glama). *Am. J. Vet. Res, American Journal of Veterinary Research*. 1989, **50**, 2049-53.

GARCIA PEREIRA FL., GREENE SA., MCEWEN M-M., KEEGAN R. Analgesia and anesthesia in camelids. *Small Rumin. Res.*. 2006, **61**, 227-233.

GIUDICELLI B. Identification des lamas - identification et enregisgtrement des lamas et alpagas [En ligne]. *Assoc. ALPES - Alpagas Lamas Propr. Ecoute Solidar.*. 2014a,. [http://a.l.p.e.s.free.fr/commentidentifierlamasetalpagas.html] (consulté le 17/8/14).

GIUDICELLI B. Association Française Lamas Alpagas | L'enregistrement [En ligne]. *AFLA - Assoc. Fr. Lamas Alpagas*. 2014b,. [http://www.lamas-alpagas.org/elevage-lamas-alpagas-enregistrement-lareu.html] (consulté le 18/8/14).

GIUDICELLI B. Association Française Lamas Alpagas | La vaccination des petits camélidés [En ligne]. *AFLA - Assoc. Fr. Lamas Alpagas*. 2014,. [http://www.lamas-alpagas.org/elevage-lamas-alpagas-alimentation.html] (consulté le 21/8/14).

HAJDUK P. Haematological reference values for alpacas. *Aust. Vet. J.*. 1992, **69**, 89-90.
HARVEY JW. *Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals*. 2001, W.B. Saunders, Philadelphia, PA.
HEATH AM., NAVARRE CB., SIMPKINS A., PUROHIT RC., PUGH DG. A comparison of surface and rectal temperatures between sheared and non-sheared alpacas (< i> Lama pacos</i>). *Small Rumin. Res.*. 2001, **39**, 19–23.
HELLER R., GREGORY PC., ENGELHARDT W v. Pattern of motility and flow of digesta in the forestomach of the llama (Lama guanacoe f. glama). *J. Comp. Physiol. B*. 1984, **154**, 529–533.
HENRY F. Elevage du Fontenelle : Alpagas - Moutons d'Ouessant [En ligne]. *Elev. Fontenelle*. 2008,. [http://www.elevagedufontenelle.com] (consulté le 6/5/14).
JONES M., BOILEAU M. Camelid Herd Health. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*. 2009, **25**, 239-263.
JOUANY JP. La digestion chez les camélidés ; comparaison avec les ruminants. *INRA Prod. Anim.*. 2000, **13**, 165-176.
KADWELL M., FERNANDEZ M., STANLEY HF., BALDI R., WHEELER JC., ROSADIO R., et al. Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*. 2001, **268**, 2575-2584.
KAPIL S., YEARY T., EVERMANN JF. Viral Diseases of New World Camelids. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*. 2009, **25**, 323-337.
KERR MG. *Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology*. 2002, Blackwell Science, Malden, MA.
LAREU Homepage [En ligne] . *LAREU - Llama Alpaca Regist. Eur.*. 2013,. [http://www.lareu.org/] (consulté le 17/8/14).
LASSEN ED., Pearson, E.G., Long, P., Schmotzer, W.B. Clinical biochemical values of llamas : Reference values. *Am. J. Vet. Res, American Journal of Veterinary Research*. 1986, **47**, 2278-2280.
MARGIOCCO., SCANSEN B., BONAGURA J. Camelid Cardiology. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*. 2009, **25**, 423-454.
Ministère de l'Agriculture - Pérou [En ligne] . 2013,. [http://www.minag.gob.pe] (consulté le 17/8/14).
NIEHAUS A. Dental Disease in Llamas and Alpacas. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*. 2009, **25**, 281-293.
OLLAGNIER C. Recensement des parasites digestifs des petits camélidés (genre Llama) en France. Thèse de Doctorat Vétérinaire. 2007, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 95 p.
PICAUT C. Contribution à l'étude statistique de la formule leucocytaire manuelle chez le chien. 2006, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 111 p.
POCHET C. Hem'Image [En ligne]. *Bioimage - Microphotographies En Hématologie Cytol. Parasitol. Histol.*. 2013,. [http://bioimage.free.fr/hem-image/index.htm] (consulté le 24/3/15).
POLLARD JC., LITTLEJOHN RP. Effects of social isolation and restraint on heart rate and behaviour of alpacas. *Appl. Anim. Behav. Sci.*. 1995, **45**, 165-174.
PORTEMER F. Dermatologie des petits camélidés : lamas et alpagas. 2012, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
Recensement des camélidés en France - Question orale sans débat n° 0480S de Mme Nicole Bonnefoy (Charente - SOC) [En ligne] . *Sénat Un Site Au Serv. Citoyens*. 2013,. [http://www.senat.fr/questions/base/2013/qSEQ13050480S.html] (consulté le 18/8/14).

Recensement des camélidés sur le territoire français - Question écrite n°22203 de Mme Nicole Bonnefoy (Charente - SOC) [En ligne] . *Sénat Un Site Au Serv. Citoyens*. 2012,. [http://www.senat.fr/questions/base/2012/qSEQ120222203.html] (consulté le 18/8/14).

RICHARD A. Association Française Lamas Alpagas | Concours [En ligne]. *Assoc. Fr. Lamas Alpagas*. 2014,. [http://www.lamas-alpagas.org/elevage-lamas-alpagas-concours.html] (consulté le 17/8/14).

SALVÁ BK., ZUMALACÁRREGUI JM., FIGUEIRA AC., OSORIO MT., MATEO J. Nutrient composition and technological quality of meat from alpacas reared in Peru. *Meat Sci.*. 2009, **82**, 450-455.

SERIN S. Contribution à l'étude zootechnique de l'élevage d'alpagas au Pérou. 2008, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 168 p.

SIMONS JA., D.L. W., Hennessy D.P. Clinical biochemical reference ranges for female alpacas (Lama pacos). *Comp. Biochem. Physiol., Comparative Biochemistry and Physiology*. 1993, **105B**, 603-08.

SMITH CL., PETER AT., PUGH DG. Reproduction in llamas and alpacas: A review. *Theriogenology*. 1994, **41**, 573-592.

SOLY A. Le Lama : Contention, Examen Clinique, Généralités Thérapeutiques et Zootechniques. 2005, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 112 p.

South Africa Alpacas Breeding Society [En ligne] . 2009,. [http://www.alpacasociety.co.za/] (consulté le 30/3/15).

TORNQUIST SJ. Clinical Pathology of Llamas and Alpacas. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., Alpaca and Llama Health Management*. 2009, **25**, 311-322.

TORNQUIST SJ., BOEDER L., RIOS-PHILLIPS C., ALARCON V. Prevalence of Mycoplasma haemolamae infection in Peruvian and Chilean llamas and alpacas. *J. Vet. Diagn. Invest.*. 2010, **22**, 766–769.

VAN SAUN RJ. Nutrient requirements of South American camelids: A factorial approach. *Small Rumin. Res.*. 2006, **61**, 165-186.

VAN SAUN RJ. Nutritional Diseases of Llamas and Alpacas. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., Bovine Ultrasound*. 2009, **25**, 797-810.

VERGNEAU N., MAZELIER Q. Détermination des intervalles de références des variables biochimiques sanguines du chien au laboratoire de biochimie de l'ENVA. 2014, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 348 p.

WHITEHEAD CE. Management of Neonatal Llamas and Alpacas. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*. 2009, **25**, 353-366.

WHITEHEAD CE., BEDENICE D. Neurologic Diseases in Llamas and Alpacas. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*. 2009, **25**, 385-405.

XT-Veterinary-Hematology-Analyzer [En ligne] . *Sysmex*. 2015,. [https://www.sysmex.com/ca/fr/Products/Hematology/XTSeries/Pages/XT-Veterinary-Hematology-Analyzer.aspx] (consulté le 8/4/15).

CARACTERISTIQUES ZOOTECHNIQUES ET SANITAIRES DE L'ÉLEVAGE D'ALPAGAS (*LAMA PACOS*) EN FRANCE ET ÉLABORATION D'UNE BASE DE DONNÉES HÉMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

NOM et Prénom : HOOLBECQ Mathilde

Résumé :

L'alpaga est un membre de la famille des camélidés Sud-Américains dont l'élevage se développe en Europe. Cependant, peu de connaissances sont disponibles pour le vétérinaire praticien, notamment concernant les valeurs biochimiques et hématologiques usuelles. Dans une première partie de ce travail, une synthèse des connaissances nécessaires pour aborder la consultation d'un alpaga a été réalisée. Dans un second temps, une étude expérimentale a permis de déterminer des intervalles de référence de variables biochimiques et hématologiques pour l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA) ainsi que des éléments de morphologie cellulaire. Pour cela, 44 alpagas de référence ont été recrutés dans un élevage d'Ile de France. Les prélèvements ont été analysés par les laboratoires de biochimie et d'hématologie de l'ENVA. Les intervalles de référence ont été déterminés *de novo* à l'aide du logiciel Reference Value Advisor et ont ensuite été confrontés aux résultats de la littérature.

Cette étude constitue un outil, qui pourrait être complété par de nouveaux travaux, visant à améliorer la taille et la représentativité de l'échantillon ou à ajouter de nouvelles variables d'étude.

Mots clés :

INTERVALLE DE RÉFÉRENCE / INDIVIDU DE RÉFÉRENCE / ANALYSE DE LABORATOIRE / VALEUR USUELLE / BIOCHIMIE / HÉMATOLOGIE / MORPHOLOGIE CELLULAIRE / FROTTIS SANGUIN / BASE DE DONNÉES / CONSULTATION VÉTÉRINAIRE / CAMÉLIDÉ / ALPAGA / FRANCE

Jury :

Président : **Pr. A la Faculté de Médecine de Créteil**

Directeur : **M. BELLIER Sylvain**

Assesseur : **M. BELBIS Guillaume**

ZOOTECHNIC AND SANITARY CHARACTERISTICS OF ALPACA'S BREEDING IN FRANCE AND CREATION OF A BASIS FOR BLOOD BIOCHEMICAL AND HEMATOLOGICAL VALUES

SURNAME: HOOLBECQ

Given name: Mathilde

Summary:

The alpaca is a member of the South American Camelids (SACs) family, whose breeding is growing in Europe. However, little knowledge is available for the veterinary practitioner, especially relating to the basic biochemical and haematological values. The first part of this work summarizes the basic and necessary knowledge before consulting an alpaca. In a second part, the experimental study aimed to determine the biochemical and haematological reference intervals at the Alfort Veterinary School (ENVA) as well as blood cells morphology. For that purpose, forty four reference alpacas from an Ile-de-France breeding were included. Blood samples were analysed at the biochemical and hematologic laboratories of ENVA. The reference intervals were determined *de novo* using Reference Value Advisor software and were then compared with literature reports.

This study is a first tool, which could be completed by further works, to improve the sample size or by other variables.

Key words:

REFERENCE INTERVAL / REFERENCE INDIVIDUAL / LABORATORY ANALYSIS / USUAL VALUE / BIOCHEMISTRY / HEMATOLOGY / CELL MORPHOLOGY / BLOOD SMEAR / DATABASE / VETERINARY CONSULTATION / CAMELID / ALPACA / FRANCE

Jury:

President: **Pr. At the Creteil Medicine Faculty**

Director: **M. BELLIER Sylvain**

Assessor: **M. BELBIS Guillaume**