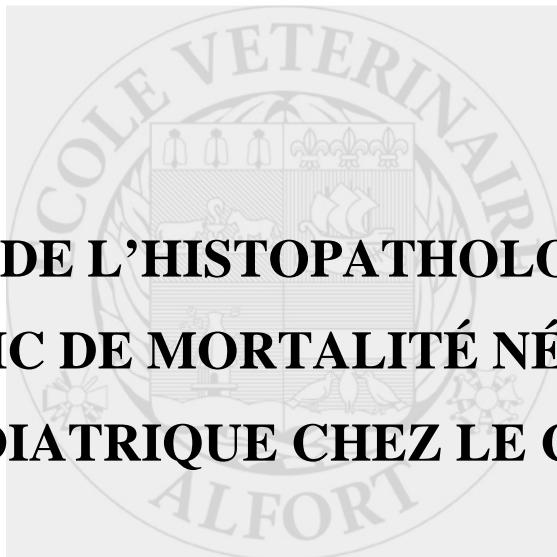


ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 2011



APPORT DE L'HISTOPATHOLOGIE AU DIAGNOSTIC DE MORTALITÉ NÉONATALE ET PÉDIATRIQUE CHEZ LE CHIEN

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le.....

par

Bérengère MOLLE-PROUDHON

Née le 9 octobre 1986 à Paris 16^{ème}

JURY

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

Membres

**Directeur : M. Dominique GRANDJEAN
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
Assesseur : Mme Bénédicte GRIMARD-BALLIF
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort**

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur MIALOT Jean-Paul

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard

Professeurs honoraires: MM. et Mme : BRUGERE Henri, BRUGERE-PICOUX Jeanne, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Bernard, CRESPEAU François, DEPUTTE Bertrand, LE BARS Henri, 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. POLACK Bruno, Maître de conférences - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

- UNITE DE CARDIOLOGIE Mme CHETBOUL Valérie, Professeur Melle GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier	- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES M. CHERMETTE René, Professeur * M. POLACK Bruno, Maître de conférences M. GUILLOT Jacques, Professeur Mme MARIGNAC Geneviève, Maître de conférences M. HUBERT Blaise, Praticien hospitalier M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP)
- UNITE DE CLINIQUE EQUINE M. AUDIGIE Fabrice, Professeur * M. DENOIX Jean-Marie, Professeur Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier Mme CHRISTMANN Undine, Maître de conférences Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel Mme PRADIER Sophie, Maître de conférences Melle DUPAYS Anne-Gaëlle, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel	- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE M. FAYOLLE Pascal, Professeur * M. MOISSONNIER Pierre, Professeur M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences M. NIEBAUER Gert, Professeur contractuel Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences
- UNITE D'IMAGERIE MEDICALE Mme BEDU-LEPERLIER Anne-Sophie, Maître de conférences contractuel Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier	- UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences * M. NUDELmann Nicolas, Maître de conférences M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP) M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences (rattachée au DPASP) Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel (rattachée au DPASP) M. MAUFFRE Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel, (rattaché au DPASP)
- UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel	- DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION M. PARAGON Bernard, Professeur
- DISCIPLINE : OPHTHALMOLOGIE Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences	- DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS Mme ROUX Françoise, Maître de conférences

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

- DISCIPLINE : BIOSTATISTIQUES M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences	- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR M. ADJOU Karim, Maître de conférences * M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel, M. HESKIA Bernard, Professeur contractuel
- UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE M. BOLNOT François, Maître de conférences * M. CARLIER Vincent, Professeur Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences	- UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur * M. COURREAU Jean-François, Professeur M. BOSSE Philippe, Professeur Mme LEROY-BARASSIN Isabelle, Maître de conférences M. ARNE Pascal, Maître de conférences M. PONTER Andrew, Professeur
- UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES M. BENET Jean-Jacques, Professeur * Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur Mme DUFOUR Barbara, Professeur Melle PRAUD Anne, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel,	- DISCIPLINE : URGENCÉ SOINS INTENSIFS Mme ROUX Françoise, Maître de conférences
- DISCIPLINE : ANGLAIS Mme CONAN Muriel, Professeur certifié	- DISCIPLINE : URGENCÉ SOINS INTENSIFS Mme ROUX Françoise, Maître de conférences
- UNITE DE BIOCHIMIE M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences * M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences	- UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur * M. BOULOUS Henri-Jean, Professeur M. MAGNE Laurent, Maître de conférences contractuel
- DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE M. PHILIPS, Professeur certifié	- UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE M. TISSIER Renaud, Maître de conférences * Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur M. PERROT Sébastien, Maître de conférences
- UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences * M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur	- UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur * M. TIRET Laurent, Maître de conférences Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences
- UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur * Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences M. REYES GOMEZ Edouard, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel,	- UNITE DE VIROLOGIE M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences - DISCIPLINE : ETHOLOGIE Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences

- UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES M. CHATEAU Henry, Maître de conférences * Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur M. DEGUEURCE Christophe, Professeur Mme ROBERT Céline, Maître de conférences	- UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur * M. BOULOUS Henri-Jean, Professeur M. MAGNE Laurent, Maître de conférences contractuel
- DISCIPLINE : ANGLAIS Mme CONAN Muriel, Professeur certifié	- UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE M. TISSIER Renaud, Maître de conférences * Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur M. PERROT Sébastien, Maître de conférences
- UNITE DE BIOCHIMIE M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences * M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences	- UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur * M. TIRET Laurent, Maître de conférences Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences
- DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE M. PHILIPS, Professeur certifié	- UNITE DE VIROLOGIE M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences
- UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences * M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur	- DISCIPLINE : ETHOLOGIE Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences
- UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur * Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences M. REYES GOMEZ Edouard, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel,	- UNITE DE VIROLOGIE M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences - DISCIPLINE : ETHOLOGIE Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

Au professeur de la faculté de médecine de Créteil, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse

Au professeur Dominique Grandjean, pour avoir dirigé ce travail

Au professeur Bénédicte Grimard, pour sa relecture rigoureuse et son soutien

Au docteur Aurélien Grellet, pour m'avoir proposé ce sujet de thèse et m'avoir accompagnée dans sa réalisation

A la société Royal Canin, en particulier le Docteur Catherine Boucher, pour avoir financé cette étude

Au service d'histologie de la faculté de médecine vétérinaire de Liège, en particulier les docteurs Nadine Antoine et Dominique Cassart, pour leur collaboration à ce travail, leur accueil et leur immense gentillesse à l'occasion de ma visite en Belgique.

Au docteur Cassandre Boogaerts, pour ses bons conseils au cours de l'étude et de sa rédaction

Au docteur Edouard Reyes Gomez, pour sa relecture attentive de mes planches histopathologiques

A Barbara, pour sa précieuse collaboration à cette étude et sa bonne humeur au cours des nombreuses séances d'autopsie

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX	4
LISTE DES PHOTOS	5
LISTE DES FIGURES	9
LISTE DES ANNEXES	10
GLOSSAIRE	11
INTRODUCTION	13
<u>Première partie : LA MORTALITE NEONATALE ET PEDIATRIQUE CHEZ LE CHIEN : ETUDE</u>	
BIBLIOGRAPHIQUE	15
1.1. Les causes de mortalité néonatale et pédiatrique chez le chien	15
1.1.1. Inventaire des causes de mortalité néonatale et pédiatrique	15
1.1.2. Les causes les plus fréquemment rencontrées et leur expression clinique	17
1.1.2.1. L'hypoxie	17
1.1.2.2. La pathologie liée à l'immaturité physiologique du chiot	17
1.1.2.2.1. L'hypothermie	17
1.1.2.2.2. La déshydratation	18
1.1.2.2.3. L'hypoglycémie	18
1.1.2.3. La transmission de germes par la mère	19
1.1.2.3.1. Les affections bactériennes localisées	19
1.1.2.3.2. Les affections bactériennes généralisées	19
1.1.2.3.2.1. Le syndrome du lait toxique	19
1.1.2.3.2.2. La septicémie néonatale	19
1.1.2.4. La pathologie en collectivité	20
1.2. Les outils diagnostiques dont dispose le vétérinaire	28
1.2.1. L'anamnèse et les commémoratifs	28
1.2.2. L'examen nécropsique	29
1.2.2.1. La technique de l'autopsie chez le chiot	29
1.2.2.1.1. Réception du chiot et recueil des commémoratifs	29
1.2.2.1.2. Examen externe du chiot	30
1.2.2.1.3. Incision cutanée et dépouillement	30
1.2.2.1.4. Ouverture des cavités abdominale et thoracique, examen des organes en place	31
1.2.2.1.5. Eviscération et observation des organes isolés	31
1.2.2.1.6. Ouverture de la boîte crânienne	34
1.2.2.1.7. Réalisation de prélèvements en vue d'examens complémentaires	35
1.2.2.2. Les lésions macroscopiques observables	35

1.2.3. Les examens de laboratoire	38
1.2.3.1. La virologie	38
1.2.3.2. La sérologie	38
1.2.3.3. La bactériologie	39
1.2.3.4. La PCR	39
1.2.3.5. L'histopathologie	40
1.2.3.5.1. La préparation des lames histologiques	40
1.2.3.5.1.1. La fixation	40
1.2.3.5.1.2. La circulation	41
1.2.3.5.1.3. L'enrobage	41
1.2.3.5.1.4. Les coupes	42
1.2.3.5.1.5. La coloration	42
1.2.3.5.2. La lecture d'une lame au microscope	42
1.2.3.5.2.1. La méthode de lecture	43
1.2.3.5.2.2. Les pièges de l'histologie	43
1.2.3.5.2.3. Les artéfacts de lecture	43
1.2.3.5.3. Les lésions microscopiques observables par appareil	43
1.2.3.5.3.1. Histopathologie de l'appareil digestif	43
1.2.3.5.3.2. Histopathologie des glandes annexes	45
1.2.3.5.3.3. Histopathologie de l'appareil urinaire	47
1.2.3.5.3.4. Histopathologie de l'appareil circulatoire	48
1.2.3.5.3.5. Histopathologie des organes hémato-lymphopoïétiques	49
1.2.3.5.3.6. Histopathologie de l'appareil respiratoire	50
1.2.3.5.3.7. Histopathologie de l'encéphale	53
1.2.3.5.4. Les lésions microscopiques en fonction de l'étiologie	54
1.2.3.6. Autres techniques associées à l'histopathologie	56
 <u>Deuxième partie : EVALUATION DE L'INTERET DE L'HISTOPATHOLOGIE DANS LE CADRE DE MORTALITE NEONATALE ET PEDIATRIQUE CHEZ LE CHIEN</u>	57
2.1. Animaux, matériel et méthodes	57
2.1.1. Individus inclus dans l'étude	57
2.1.2. Réalisation des autopsies	58
2.1.3. Préparation des lames histologiques	62
2.2. Résultats	65
2.2.1. La population étudiée	65
2.2.2. Les lésions macroscopiques observées à l'autopsie	66
2.2.3. Les lésions histopathologiques rencontrées	69
2.2.3.1. Les lésions de l'appareil digestif	69
2.2.3.2. Les lésions des glandes annexes	71
2.2.3.3. Les lésions de l'appareil urinaire	74
2.2.3.4. Les lésions de l'appareil circulatoire	75
2.2.3.5. Les lésions des organes hémato-lymphopoïétiques	75
2.2.3.6. Les lésions de l'appareil respiratoire	77
2.2.3.7. Les lésions de l'encéphale	81
2.2.3.8. Les lésions cutanées	82
2.2.4. Les causes de mortalité rencontrées au cours de l'étude	83

2.2.5. Evaluation de l'histopathologie comme aide au diagnostic	84
2.2.5.1. Les résultats histopathologiques en fonction du laboratoire d'étude	86
2.2.5.2. Les résultats histopathologiques en fonction de l'âge du chiot	87
2.2.5.3. Les résultats histopathologiques en fonction des symptômes exprimés et des lésions macroscopiques à l'autopsie	87
 2.3. Discussion	89
2.3.1. La place de l'histopathologie dans le diagnostic de mortalité néonatale	89
2.3.1.1. Cas où l'histopathologie a représenté une réelle aide au diagnostic	89
2.3.1.2. Cas où l'histopathologie n'a pas permis d'aboutir à un diagnostic	89
2.3.1.2.1. La mauvaise qualité d'échantillonnage	89
2.3.1.2.2. Les lésions non spécifiques	90
2.3.1.2.3. Les risques d'erreur d'interprétation	91
2.3.1.3. Conditions de recours à l'histopathologie	91
2.3.2. Débouchés et critique de l'étude	93
2.3.2.1. Débouchés de l'étude	93
2.3.2.2. Limites de l'étude	93
2.3.2.3. Propositions d'investigations supplémentaires	93
 CONCLUSION	95
 BIBLIOGRAPHIE	97
ANNEXES	101

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Causes d'hypoxie à la naissance et symptômes observés

Tableau 2 : Causes d'hypothermie, déshydratation et hypoglycémie chez le chiot nouveau-né et symptômes observés

Tableau 3 : Comparaison des symptômes exprimés par le chiot lors d'hypoxie, hypothermie, déshydratation et hypoglycémie

Tableau 4 : Causes d'affections bactériennes généralisées chez le chiot et symptômes observés

Tableau 5 : Agents infectieux majeurs en pathologie néonatale et symptômes observés

Tableau 6 : Lésions observables à l'autopsie en cas de mortalité chez le chiot

Tableau 7 : Lésions fréquemment rencontrées à l'autopsie lors de mortalité chez le chiot et leur orientation diagnostique

Tableau 8 : Lésions observables à l'histopathologie en cas de mortalité chez le chiot

Tableau 9 : Les différents bains du Tissue-Tek® VIP

Tableau 10 : Protocole de coloration à l'hématoxyline éosine

Tableau 11 : Population étudiée et tranche d'âge

Tableau 12 : Diagnostic final établi pour la population étudiée

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Position de la vessie en période néo-natale

Photo 2 : Topographie des principaux organes abdominaux et thoraciques

Photo 3 : Topographie des principaux organes abdominaux

Photo 4 : Aspect normal du cœur

Photo 5 : Aspect normal du foie (face diaphragmatique)

Photo 6 : Aspect normal du foie (face viscérale)

Photo 7 : Aspect normal du pancréas

Photo 8 : Aspect normal de la rate

Photo 9 : Aspect normal de la vessie après incision

Photo 10 : Topographie des organes génitaux femelle

Photo 11 : Aspect normal de l'encéphale

Photo 12 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : absence d'anomalie

Photo 13 : Image microscopique d'une coupe de rein : absence d'anomalie

Photo 14 : Image microscopique d'une coupe de myocarde : absence d'anomalie

Photo 15 : Image microscopique d'une coupe de rate : absence d'anomalie

Photo 16 : Image microscopique d'une coupe de thymus : absence d'anomalie

Photo 17 : Image microscopique d'une coupe d'encéphale : absence d'anomalie

Photo 18 : Fiche de renseignements

Photo 19 : Emballage, réfrigération et identification des chiots

Photo 20 : Préparation de la table d'autopsie

Photo 21 : Comparaison des chiots d'une même fratrie entre eux

Photo 22 : Chiot fixé au plateau avant et après dépouillement

Photo 23 : Appréciation de l'état d'hydratation du chiot au doigt

Photo 24 : Ouverture de la ligne blanche de la région périnéale au processus xiphoïde, recueil d'un épanchement et réclinaison des parois abdominales

Photo 25 : Ponction du diaphragme, section des côtes et réclinaison du plastron costal

Photo 26 : Dépouillement de la tête et ouverture de la boîte crânienne

Photo 27 : Fragments anatomiques des différents organes prélevés au cours de l'autopsie

Photo 28 : Appareil d'enrobage

Photo 29 : Refroidissement des blocs et section au microtome

Photo 30 : Coloration des lames à l'Hématoxyline éosine

Photo 31 : Diarrhée (A), lait autour des cavités nasales (B), nécrose de l'extrémité de la langue (C) et fente palatine (D) chez des chiots de 0 à 4 jours

Photo 32 : Epanchement thoracique (après retrait des poumons)

Photo 33 : Pétéchies sous la séreuse stomachale

Photo 34 : Dilatation aérique des anses intestinales

Photo 35 : Congestion intestinale

Photo 36 : Hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques

Photo 37 : Décoloration du foie par marbrures

Photo 38 : Liséré jeune au bord caudal du foie

Photo 39 : Décoloration et pétéchies rénales

Photo 40 : Mauvaise distinction cortico-médullaire à la coupe longitudinale

Photo 41 : Congestion pulmonaire

Photo 42 : Liquide hémorragique à la coupe

Photo 43 : Image microscopique d'une coupe d'intestin : entérite aiguë

Photo 44 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : entérite sub-aiguë

Photo 45 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : entérite chronique

Photo 46 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : débris nécrtiques à l'intérieur des cryptes

Photo 47 : Image microscopique d'une coupe d'intestin : histolyse complète

Photo 48 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : congestion

Photo 49 : Images microscopiques d'une coupe de foie : congestion et hémorragies

Photo 50 : Images microscopiques d'une coupe de foie : infiltrat inflammatoire parenchymateux et périvasculaire

Photo 51 : Image microscopique d'une coupe de foie : stéatose

Photo 52 : Images microscopiques d'une coupe de foie : congestion et foyers d'hématopoïèse

Photo 53 : Images microscopiques d'une coupe de foie : hépatocytes en dégénérescence

Photo 54 : Image microscopique d'une coupe de foie : pigments intrahépatiques

Photo 55 : Image microscopique d'une coupe de pancréas : histolyse

Photo 56 : Image microscopique d'une coupe de rein : congestion

Photo 57 : Image microscopique d'une coupe de rein : foyers hémorragiques (pétéchies)

Photo 58 : Image microscopique d'une coupe de myocarde : congestion, hémorragies intraparenchymateuses multifocales et pétéchies

Photo 59 : Image microscopique d'une coupe de rate : cellules inflammatoires

Photo 60 : Images microscopiques d'une coupe de thymus : congestion, hémorragies et déplétion cellulaire

Photo 61 : Images microscopiques d'une coupe de thymus : corpuscules de Hassal

Photo 62 : Image microscopique d'une coupe de nœud lymphatique mésentérique : déplétion cellulaire et trames conjonctives bien visibles

Photo 63 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : bronchopneumonie débutante suppurée

Photo 64 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : bronchite subaiguë

Photo 65 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : pneumonie alvéolaire aiguë et chronique

Photo 66 : Image microscopique d'une coupe de poumon : présence non pathologique de macrophages alvéolaires chez un chiot de quelques heures

Photo 67 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : pneumonie interstitielle subaiguë

Photo 68 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : congestion et hémorragies

Photo 69 : Image microscopique d'une coupe de poumon : œdème périvasculaire

Photo 70 : Image microscopique d'une coupe de poumon : œdème alvéolaire

Photo 71 : Image microscopique d'une coupe de poumon : atélectasie partielle

Photo 72 : Image microscopique d'une coupe de poumon : emphysème

Photo 73 : Image microscopique d'une coupe de poumon : foyers de nécrose et de bactéries

Photo 74 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : amas bactériens

Photo 75 : Images microscopiques d'une coupe de cerveau : congestion méningée sévère

Photo 76 : Image microscopique d'une coupe de peau : absence d'anomalie

Photo 77 : Images microscopiques d'une coupe de peau : panniculite diffuse aiguë à subaiguë sévère

Photo 78 : Image microscopique d'une coupe de peau : hémorragies

Photo 79 : Image microscopique d'une coupe de peau : dermite diffuse

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Causes de mortalité rencontrées au cours de l'étude

Figure 2 : Apport de l'histopathologie au diagnostic pour la population étudiée

Figure 3 : Apport de l'histopathologie au diagnostic de mortalité en fonction du laboratoire d'analyse

Figure 4 : Apport de l'histopathologie au diagnostic de mortalité en fonction de l'âge du chiot

Figure 5 : Apport de l'histopathologie au diagnostic de mortalité en fonction de la présence de symptômes exprimés avant la mort et de lésions macroscopiques à l'autopsie

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Recommandations aux éleveurs pour l'envoi de chiots à autopsier

Annexe 2 : Questionnaire aux éleveurs de demande d'autopsie de chiots

Annexe 3 : Prélèvement d'organes pour la PCR chez le chiot

Annexe 4 : Rapport

Annexe 5 : Tableau bilan des lots 1 et 2

Annexe 6 : Tableau bilan du lot 3

Annexe 7 : Races des chiots inclus dans l'étude

Annexe 8 : Abstract présenté au congrès de l'EVSSAR en mars 2011

Annexe 9 : Poster présenté au congrès de l'EVSSAR en mars 2011

GLOSSAIRE

% : pour cent
°C : degré Celsius
€ : euros
µm : micromètre
Ac : anticorps
ADN : Acide Désoxyribonucléique
Ag : antigène
ARN : Acide Ribonucléique
bpm : battements par minute
CAV-1 : Adénovirus canin de type 1 (virus de l'hépatite de Rubarth)
CCVe : Coronavirus canin entérique
CCVp : Coronavirus canin pantropique
CHV-1 : Herpèsvirus canin de type 1
CIVD : Coagulation Intravasculaire Disséminée
CPV-1 : Parvovirus canin de type 1 (« virus-minute »)
CPV-2 : Parvovirus canin de type 2
ddl : degré de liberté
ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ENVA : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
EVSSAR : European Veterinary Society for Small Animal Reproduction
FC : fréquence cardiaque
FITC : Fluorescéine Isothiocyanate
FPS : Fadding Puppy Syndrome : Syndrome de Dépérissement du Chiot
FR : fréquence respiratoire
G : grossissement
LCR : Liquide Céphalo-Rachidien
LOF : Livre des Origines Français
min : minute
mL : millilitre
mm : millimètre
mpm : mouvements par minute
N : norme
NB : Nota Bene
n° : numéro
nm : nanomètre
PCR : Polymerase Chain Reaction
SIRS : Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique
UFC : Unité Formant Colonie
UMES : Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport

INTRODUCTION

Les statistiques sont nombreuses et concordantes qui estiment la mortalité des chiots avant 5 semaines autour de 30 à 35%, dont (DUMON, 1992) :

- 10 à 12% d'avortements et mortinatalité (naissance d'un chiot mort-né)
- 13 à 15% de mortalité entre la naissance et 15 jours (mortalité néonatale)
- 7 à 10% de mortalité entre 15 jours et 5 semaines (mortalité pédiatrique)

Le développement de la cynophilie (avec 198 029 inscriptions au LOF en 2010), la multiplication des élevages, la valeur économique croissante des chiots de race pure (entre 600 et 1 500 €, voire plus selon le palmarès des parents), ont depuis quelques années stimulé la recherche en pédiatrie canine, un domaine longtemps négligé. Il n'est pas facile de déterminer un niveau de mortalité néonatale et pédiatrique au-delà duquel s'alarmer. Généralement, on considère qu'un taux de mortalité supérieur à 20% en pré-sevrage ou supérieur à 10% en post-sevrage, ou encore une augmentation soudaine du taux de mortalité, doit conduire à des investigations et une prise en charge du trouble. (GUNN-MOORE, 2006)

Le vétérinaire doit alors faire face à un véritable défi diagnostique. En effet, la petite taille et l'immaturité des animaux limitent les possibilités sémiologiques, et la symptomatologie fruste est souvent commune à différentes causes. L'examen anatomopathologique en lui-même permet rarement de conclure à la cause de mortalité chez le chiot et il s'avère nécessaire de réaliser au cours de l'autopsie des prélèvements en vue de réaliser des examens de laboratoire.

Devant un tel tableau, l'examen histopathologique semble se dessiner comme un véritable outil diagnostique. Très souvent cité dans les publications concernant en particulier les agents infectieux responsables de mortalité chez le chiot, il est rarement détaillé, et peu d'informations sont disponibles concernant la pertinence de cet examen et les lésions attendues. C'est pourquoi une étude a été menée par l'UMES (Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport) à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, en partenariat avec la société Royal Canin, afin d'explorer les atouts et les limites de l'histopathologie comme aide au diagnostic de mortalité chez le chiot.

Dans un premier temps, nous rappellerons les multiples causes de mortalité néonatale et pédiatrique en élevage canin, et présenterons les différentes méthodes diagnostiques dont dispose le praticien pour les mettre en évidence. Nous envisagerons ensuite l'examen anatomopathologique en détaillant sa réalisation et ses limites. Puis, dans un second temps, nous développerons notre étude s'intéressant plus particulièrement à l'histopathologie dans le cadre de l'investigation des causes de mortalité chez le chiot. Il est à noter que nous n'envisagerons pas les aspects thérapeutique et prophylactique des différentes affections présentées, ceci ne relevant pas de notre travail de synthèse.

Première Partie :

LA MORTALITE NEONATALE ET PEDIATRIQUE CHEZ LE CHIEN : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Les troubles de la reproduction chez la chienne (infertilité, interruption de la gestation (mortalité embryonnaire précoce, résorption fœtale, avortement) et mortalité néonatale) sont très souvent complexes et multifactoriels. L'identification précise de la cause est fondamentale, dans le but de prescrire des mesures thérapeutiques le cas échéant, mais surtout des mesures préventives pour les portées à venir. L'exploration de la mortalité néonatale et pédiatrique s'inscrit donc dans une démarche globale de protection à l'échelle de l'élevage et non pas de l'individu.

La définition des périodes « néonatale » et « pédiatrique » varie d'un auteur à l'autre : de 0 à 15 jours pour certains (DUMON, 1992), jusqu'à 4 semaines pour d'autres (SEGUELA et MIMOUNI, 2008). Nous emploierons ici les termes de « mortalité néonatale » pour qualifier les chiots morts après leur naissance et jusqu'à 15 jours de vie, et « mortalité pédiatrique » pour les chiots morts entre 15 jours de vie et 10 semaines.

1.1. Les causes de mortalité néonatale et pédiatrique chez le chien

1.1.1. Inventaire des causes de mortalité néonatale et pédiatrique

DUMON (1992) classe les différentes affections responsables de mortalité chez le chiot nouveau-né en 5 catégories :

- hypoxie
- pathologie liée à l'immaturité physiologique du chiot
- anomalies génétiques
- pathologie liée à la mère
- pathologie des collectivités

Tenant compte de cette classification, l'encadré suivant (DUMON, 1992 et 2005 ; FAVIER, 2001 ; FOX, 1963 ; MOSIER, 1974) propose une liste des causes de mortalité néonatale et pédiatrique chez le chien, dont les principales sont reprises par la suite.

Causes de mortalité néonatale et pédiatrique chez le chien

- Hypoxie
- Pathologie liée à l'immaturité physiologique du nouveau-né
 - o Hypothermie
 - o Déshydratation
 - o Hypoglycémie
- Anomalie génétique
 - o Malformation congénitale : fente palatine, accompagnée ou non d'un bec de lièvre, hydrocéphalie, achondroplasie et cranioschisis, mégaoesophage et sténose pylorique, imperforation de l'anus
 - o Hypoplasie du thymus
 - o Diabète insipide néphrogénique
- Pathologie liée à la mère
 - o Mauvaise santé de la mère : chienne âgée, embonpoint (cause de dystocie), anémie
 - o Erreurs alimentaires au cours de la gestation :
 - Hypervitaminose A
 - Déficit lipidique
 - Excès protéique (syndrome du chiot nageur)
 - Carence en vitamine K (syndrome hémorragique)
 - o Médication tératogène au cours de la gestation : progestagènes, corticoïdes, griséfuline, certains antibiotiques (dihydrostreptomycine, tétracycline, gentamycine...)...
 - o Transmission de germes par la mère
 - Affection bactérienne localisée
 - Omphalophlébite
 - Pyodermite néonatale
 - Ophtalmie néonatale
 - Affection bactérienne généralisée
 - Syndrome du lait toxique
 - Septicémie
- Pathologie des collectivités
 - o Brucellose
 - o Herpès virose
 - o Maladie de Carré
 - o Hépatite de Rubarth
 - o Parvovirose
 - o Maladie du Virus Minute
 - o Mycoplasmose
 - o Leptospirose
 - o Entérites multifactorielles : coronavirus, rotavirus, réovirus, colibacilles, *Pasteurella*, *Campylobacter jejuni*, streptocoques, staphylocoques
 - o Hémobartonellose
 - o Parasitisme : toxoplasmose, ascaridiose, ankylostomose, coccidiose

1.1.2. Les causes les plus fréquemment rencontrées et leur expression clinique (DUMON, 1992 et 2005 ; FAVIER, 2001 ; FOX, 1963 ; MOSIER, 1974)

1.1.2.1. L'hypoxie

Les premières 36 heures de vie constituent la période la plus critique pour le chiot nouveau-né. L'adaptation la plus difficile et la plus importante est la mise en place d'une bonne ventilation pulmonaire. C'est la première inspiration qui détermine le volume des espaces alvéolaires atélectasés à la naissance et par conséquent la capacité respiratoire. En cas d'expulsion trop lente en présentation postérieure, la première inspiration a lieu alors que la tête est encore dans les eaux fœtales : celles-ci sont inhalées et encombrent les premières voies respiratoires. En outre, tout facteur susceptible de diminuer l'intensité de la première inspiration compromet l'expansion alvéolaire : chiot chétif et a fortiori prématuré, ou né par césarienne donc anesthésié. Enfin, les chiots prématurés présentent un taux anormalement bas de phosphatidylcholine, constituant du surfactant, dont le dépôt le long des parois rigidifie les alvéoles, rendant impossible leur collapsus. Il s'agit sans doute d'un élément essentiel de la mortalité quasi systématique des prématurés dans cette espèce. Le tableau 1 présente les principales causes d'hypoxie à la naissance et les symptômes que l'on peut alors observer sur les chiots.

Tableau 1 : Causes d'hypoxie à la naissance et symptômes observés

Etiologie	Expression clinique
HYPOXIE	
- Dystocie	Polypnée et cyanose : FR > 40 bpm (N = 20)
- Prématurité	Bradycardie : FC = 80-100 bpm (N = 200)
- Chiot chétif	Vocalisations expiratoires aiguës
- Chiot né par césarienne	Rejet par la mère

1.1.2.2. La pathologie liée à l'immaturité physiologique du chiot

Par rapport à certaines espèces telles que ruminants et équidés, le chiot dans la période néonatale dépend étroitement de sa mère pour assurer sa protection, son soutien et sa nutrition. Physiologiquement immature, le chiot est incapable d'assurer sa propre régulation thermique et son homéostasie hydrique et glycémique. Trois dangers majeurs le guettent :

- l'hypothermie
- la déshydratation
- l'hypoglycémie

1.1.2.2.1. L'hypothermie

La régulation thermique se met en place lentement chez le chiot dont la température rectale est de 35,5 à 37°C la première semaine de vie et n'atteint 38,5°C que vers la quatrième semaine. Il présente donc une poïkilothermie partielle pendant le premier mois de la vie. Cette hypothermie néonatale est aggravée par une absence totale de réflexe de frisson et donc de vasoconstriction périphérique jusqu'à 6 jours, et par la faible teneur en graisse du tissu hypodermique.

1.1.2.2.2. La déshydratation

Le chiot nouveau-né, dont l'eau constitue 82% du poids du corps, est particulièrement sensible à la déshydratation dès que les apports sont insuffisants. Cette grande sensibilité est liée d'une part à un ratio élevé surface cutanée/poids du corps, et d'autre part à une immaturité rénale pendant 2 à 3 semaines.

1.1.2.2.3. L'hypoglycémie

Le chiot nouveau-né, surtout âgé de moins de 5 jours, ne dispose pas de réserves de graisses comme source d'énergie, et son potentiel d'enzymes indispensables à la néoglucogénèse est insuffisant. Privé de l'apport ombilical, il doit immédiatement ajuster sa glycémie avec la nutrition intermittente qu'il reçoit.

Le tableau 2 présente les principales causes d'hypothermie, de déshydratation et d'hypoglycémie chez le jeune chiot immature, et les symptômes que l'on peut observer.

Tableau 2 : Causes d'hypothermie, déshydratation et hypoglycémie chez le chiot nouveau-né et symptômes observés

	Etiologie	Expression clinique
HYPOTHERMIE	- Chiot unique ou orphelin - Agalactie ou instinct maternel peu développé - Température ambiante insuffisante (< 20°C) [idéal = 28-30°C]	< 35°C : anorexie par perte du réflexe de succion, polypnée, bradycardie, vocalisations expiratoires aiguës < 34°C : rejet par la mère, torpeur et coma
DESHYDRATATION	- Hygrométrie ambiante insuffisante (< 35%) [idéal = 55 à 65%] - Mauvaise prise alimentaire - Diarrhée	Anorexie Léthargie Hypothermie Vocalisations Rejet par la mère Perte de poids
HYPOGLYCEMIE	- Portée nombreuse (compétition aux mamelles) - Peu de lait ou stress de la mère - Chiot orphelin	Hypothermie Déshydratation Léthargie, anorexie Vocalisations Bradycardie Respiration irrégulière Convulsions et coma

Le tableau 3 permet une comparaison aisée de la symptomatologie rencontrée en cas d'hypoxie néonatale, d'hypothermie, de déshydratation ou d'hypoglycémie. On observe une grande similitude des signes exprimés. Il s'agit de symptômes très peu spécifiques, difficilement attribuables à une affection en particulier. De plus, hypothermie, déshydratation et hypoglycémie sont étroitement liées et, bien que pouvant s'exprimer isolément, ont tendance à évoluer conjointement. Elles constituent les éléments constants du **Fadding Puppy Syndrome** ou syndrome de dépérissement du chiot car elles compliquent toutes les affections néonatales, que l'étiologie soit nutritionnelle, parasitaire ou infectieuse. (HOSKINS, 1995)

Tableau 3 : Comparaison des symptômes exprimés par le chiot lors d'hypoxie, hypothermie, déshydratation et hypoglycémie

	Polypnée	Bradycardie	Vocalisations	Rejet par la mère	Anorexie	Léthargie	Hypothermie	Déshydratation	Perte de poids	Convulsions
Hypoxie	X	X	X	X						
Hypothermie	X	X	X	X	X	X	X			
Déshydratation	(x) ^a	(x) ^a	X	X	X	X	X	X	X	
Hypoglycémie	X	X	X	(x) ^b	X	X	X	X	(x) ^b	X

(x)^a symptôme indirectement lié à la déshydratation, dû à l'installation de l'hypothermie

(x)^b symptôme indirectement lié à l'hypoglycémie, dû à l'installation de la déshydratation

1.1.2.3. La transmission de germes par la mère

1.1.2.3.1. Les affections bactériennes localisées

La contamination est réalisée par contact, surtout par léchage, et fréquemment associée à une maladie parodontale sévère de la mère :

- omphalophlébite : touche les chiots de moins de 5 jours : l'abdomen est distendu, dur et rouge à violacé, l'ombilic œdèmeux, et un abcès s'y développe rapidement (streptocoque),
- pyodermite néonatale : touche les chiots entre 5 et 10 jours : on observe des croûtes et pustules localisées à la tête et au cou, un œdème de la face et une adénomégalie sont possibles (staphylocoque),
- ophtalmie néonatale : il s'agit d'une conjonctivite purulente aiguë qui précède l'ouverture des paupières.

Ce sont trois affections de diagnostic aisé, par examen direct de lésions caractéristiques sur les chiots *post-mortem* ou de leur vivant.

1.1.2.3.2. Les affections bactériennes généralisées

1.1.2.3.2.1. Le syndrome du lait toxique

Il touche les chiots âgés de 3 à 15 jours, et est imputable à la présence de toxines bactériennes dans le lait maternel, directement due à une mammite, ou secondaire à une infection utérine ou vaginale *post-partum*.

1.1.2.3.2.2. La septicémie néonatale

Elle touche les chiots de moins d'un mois. Les facteurs prédisposant sont la non ingestion du colostrum (qui procure 95% des anticorps maternels chez le chiot), une infection de la mère (mammite, métrite, affection buccodentaire, pyodermite), ainsi que le microbiote ambiant (mauvaise hygiène des locaux, hygrométrie importante).

Le tableau 4 présente les principales causes d'affection bactérienne généralisée chez le chiot et les symptômes que l'on peut observer.

Tableau 4 : Causes d'affections bactériennes généralisées chez le chiot et symptômes observés

Etiologie	Expression clinique
SYNDROME DU LAIT TOXIQUE	<i>E. coli</i> , streptocoque hémolytique, staphylocoque
SEPTICEMIE	<i>E. coli</i> , streptocoque β-hémolytique, staphylocoque, <i>Pseudomonas</i> et <i>Klebsiella</i>

Il s'agit une fois de plus de symptômes très peu spécifiques, ne permettant pas à eux seuls de conclure à une affection en particulier. De plus, bien que d'origine bactérienne, l'hyperthermie n'est pas constante dans ces deux syndromes.

1.1.2.4. La pathologie en collectivité

Dans les collectivités canines, et plus particulièrement lorsque la concentration est importante et les installations mal adaptées, un certain nombre d'affections peuvent entraîner une morbidité ou une mortalité néonatales importantes.

Ce sont avant tout des maladies d'origine virale (Herpès virose, maladie de Carré, hépatite de Rubarth, Parvovirose, maladie du virus Minute), mais également bactériennes (Brucellose, Mycoplasmose, Leptospirose, Hémobartonellose), mixtes (entérites multifactorielles) ou encore parasitaires (Toxoplasmose, Ascaridiose, Cryptosporidiose, Coccidiose).

Les chiots les plus menacés par ces affections sont les chiots n'ayant pas reçu le colostrum dans les premières heures de vie (chiots orphelins, agalactie ou pas d'instinct maternel, portée nombreuse). La surpopulation dans les locaux accroît le risque de transmission de pathogènes aux chiots par augmentation de la pression d'infection. Un environnement défavorable contribue également au risque de développement d'agents pathogènes et leur transmission aux chiots : mauvaise hygiène, chaleur ou froid, humidité, défaut de ventilation... Enfin, le non-respect des bonnes pratiques d'élevage est un facteur-clé dans la transmission des agents pathogènes des adultes aux chiots : sectorisation des locaux, principe de marche en avant, vaccination et déparasitage des adultes...

Les agents infectieux majeurs (de par leur gravité et/ou leur fréquence) sont présentés par l'intermédiaire de fiches techniques (encadrés 2 à 7) : il s'agit de *Brucella canis*, l'Herpès virus canin de type 1, les Parvovirus canins de type 1 et 2, le paramyxovirus canin et les mycoplasmes.

Fiche technique : BRUCELLOSE (DUMON et MIMOUNI, 2005 ; HOLLETT, 2006)

Agent infectieux : *Brucella canis*, coccobacille Gram -

Prévalence : enzootique en Amérique et au Japon, extension en Europe récente due aux importations. France encore indemne à ce jour

Pathogénie : contamination des chiots par les sécrétions oronasales, vaginales, les placentas ou par le lait des femelles infectées ; tropisme des bactéries pour les nœuds lymphatiques et les organes génitaux

Symptômes :

- Chez les chiots : mortalité néonatale d'apparition brutale,
- Chez la femelle : avortement tardif (entre 45 et 55 jours de gestation) avec foyers de nécrose hémorragique sur le placenta, chiots morts-nés, momifiés, fœtus autolysés, infertilité,
- Chez le mâle : orchi-épididymite, dermatite scrotale de léchage (liée à la douleur), baisse de la libido, anomalies du sperme et infertilité,
- Chez l'adulte en général : parfois **inapparent**, fièvre ondulante, adénomégalie, glomérulo-néphrite, méningoencéphalite, discospondylite et polyarthrite, uvéite.

Diagnostic :

- Sérologie : fenêtre réduite (entre 10 semaines et 30 semaines après infection),
- Bactériologie : hémodéculture possible 2 semaines après contamination et pendant plusieurs mois (germe localisé dans les macrophages), recherche sur fœtus (viscères), enveloppes foetales et prélèvements vaginaux,
- PCR (méthode de référence).

NB : à l'inverse de la brucellose des animaux de rente, la brucellose canine, dont la contagion à l'homme est rarissime, n'est pas classée maladie à déclaration obligatoire. Toutefois, la gravité de cette maladie et son émergence en Europe justifient une extrême vigilance dans les collectivités canines et toute association de la triade :

- **Mortalité** d'apparition brutale
- **Avortements** tardifs
- **Infertilité**

dans un élevage doit impérativement conduire le praticien à rechercher cet agent infectieux, en particulier si les placentas des abortus présentent des zones de nécrose hémorragique.

Fiche technique : HERPES VIROSE (CARMICHAEL, 1971 ; VERSTEGEN *et al.*, 2008 ; DUMON et MIMOUNI, 2005 ; SMITH, 1997)

Agent infectieux : Herpès virus canin de type 1 (CHV-1), virus à ADN enveloppé

Particularité : phénomène de latence dans les cellules nerveuses de l'hôte → existence dans un élevage de **porteurs sains** avec potentielle réactivation du virus à l'occasion d'un stress, suivie de son excrétion dans l'environnement

Prévalence : répartition mondiale, entre 60 et 80% des chiens (mais probablement sous-estimée car le test sérologique ne détecte que les individus récemment infectés ou ayant réactivé le virus)

Pathogénie : contamination des chiots par les sécrétions oronasales, vaginales, ou par les personnes qui les manipulent, contamination intra-utérine suspectée

Symptômes observés :

- Chez les chiots de 4 à 6 jours : troubles digestifs et nerveux (pédalage, opisthotonos), parfois atteinte oculaire (kératite, conjonctivite), cris (expression d'une douleur abdominale) ou syndrome de dépérissement du chiot ou mort subite, 80% de mortalité, évolution en 2 à 5 jours,
- Chez les chiots en croissance et jeunes adultes : rhinopharyngite se traduisant cliniquement par une « toux de chenil »,
- Chez la femelle gestante : résorption embryonnaire, avortement tardif,
- Chez la lice : le plus souvent inapparent, vulvite herpétique en pro-oestrus, infertilité,
- Chez le mâle : le plus souvent inapparent, balanoposthite.

Diagnostic :

- Sérologie ELISA (méthode de référence mais existence de faux négatifs) : détection des anticorps anti-CHV-1 possible uniquement entre 2 et 3 mois post-infection ou réactivation,
- PCR (méthode la plus fiable) : sur les adultes suspects (sécrétions nasales ou vaginales) ou sur les avortons et chiots morts après la naissance (foie, rate, rein, poumons, endothélium vasculaire et nœuds lymphatiques...),
- Autopsie : épanchements sanguins dans les cavités abdominale et thoracique, reins hypertrophiés et déformés (en « œuf de dinde »), liseré jaune au bord caudal du foie, pétéchie sur le foie, la rate, les reins et les poumons,
- Histopathologie : foie, reins et poumons révèlent des hémorragies avec foyers de nécrose et corps d'inclusion intranucléaires détectés par immunofluorescence.

L'herpès virus est à suspecter en cas de

- **Mortalité néonatale**
- **Avortements**
- **Infertilité**
- **Toux de chenil** chez les jeunes adultes

Fiche technique : PARVOVIROSE (JUBB *et al.*, 2007 ; LE PODER et ELOIT, 2007)

Agent infectieux : Parvovirus canin de type 2 (CPV-2)

Particularité : virus nu à ADN simple brin, présentant une très grande résistance dans le milieu extérieur (6 mois à température ambiante), sensible à l'eau de javel peu diluée (1/30) ; se réplique uniquement dans les cellules en division (entérocytes, cellules lymphoïdes, cellules souches de la moelle osseuse, cellules de Purkinje chez le chiot)

Prévalence : répartition mondiale, nombreux porteurs sains parmi les adultes

Pathogénie : transmission directe horizontale (voie oro-fécale) ou indirecte (grande résistance dans le milieu extérieur), entrée par les amygdales (voie oro-nasale), virémie, colonisation des entérocytes et excrétion massive dans les fèces.

Symptômes observés :

- Chez les chiots
 - Infection pendant la période prénatale tardive : anomalies du système nerveux central (hypoplasie cérébelleuse),
 - Infection du jeune avec cellules cardiaques en cours de prolifération : myocardite non suppurée et insuffisance cardiaque aiguë ou chronique,
 - Diarrhée hémorragique, vomissements, déshydratation intense, léthargie, anorexie, douleur abdominale, mortalité suraiguë,
- Chez l'adulte : le plus souvent pas de signe clinique ; quand il y en a ils apparaissent au cours de la phase virémique tardive (5 à 7 jours post-infection).

Diagnostic :

- Sérologie ELISA,
- PCR sur les selles (écouvillon rectal),
- Autopsie :
 - Diarrhée
 - Peau inélastique et yeux enfouis dans les orbites (reflet de la déshydratation)
 - Œdèmes, ascite et hydrothorax (dus à l'hypoprotéinémie)
 - Pâleur des muqueuses (anémie)
 - Thymus involué
 - Pas toujours de lésion intestinale évidente, sinon dilatation segmentaire de l'intestin grêle, avec contenu liquide, jaune à gris et malodorant, muqueuse luisante avec parfois présence de pétéchies et/ou fibrine, hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques.

Fiche technique : PARVOVIROSE (suite)

Diagnostic (suite) :

- Histopathologie (indispensable en raison de l'absence fréquente de lésions intestinales) :
 - o les lésions intestinales sont fonction de la sévérité de la maladie et de la durée d'évolution et touchent en particulier l'iléon et les plaques de Peyer (dilatation des cryptes, entourées de cellules cubiques et remplies de débris de cellules épithéliales et cellules inflammatoires, infiltration de la *lamina propria* par des granulocytes neutrophiles et éosinophiles, dans les cas avancés érosion de la muqueuse, effusion de fluides, fibrine et érythrocytes), on retrouve les mêmes lésions mais moins sévères au niveau du côlon,
 - o organes lymphoïdes : déplétion lymphocytaire (lyse des lymphocytes dans le cortex des nœuds lymphatiques, le thymus et la pulpe blanche de la rate).

La parvovirose est à suspecter en cas de

- **Mortalité néonatale** fulgurante sur toute ou partie de la portée
- **Avec ou sans signes digestifs**
- Dans un élevage avec **hygiène douteuse** ou ne respectant pas les bonnes pratiques d'élevage (pas de sectorisation, pas de marche en avant, pas de quarantaine à l'introduction, pas de vaccination des adultes...)

Fiche technique : maladie du VIRUS MINUTE (BOUNIAS, 2003 ; GRELLET, 2009)

Agent infectieux : Parvovirus canin de type 1 (CPV-1)

Prévalence : répartition mondiale, jusqu'à 50% des chiens aux Etats-Unis

Symptômes observés :

- Chez la femelle : résorption embryonnaire, naissance de chiots anasarques,
- Chez les chiots de moins d'un mois (signes cliniques d'intensité variable au sein d'une même portée) : syndrome de dépérissement (léthargie, selles molles, détresse respiratoire), mort subite attribuée à une myocardite virale.

Diagnostic :

- Sérologie : signe un passage viral mais ne précise pas si l'animal est toujours porteur,
- Histopathologie (examen d'orientation) : corps d'inclusion intranucléaires basophiles au niveau des villosités intestinales du duodénum et du jéjunum, associés ou non à une pneumonie interstitielle avec des corps d'inclusions au niveau des bronches ou des cellules épithéliales alvéolaires,
- PCR (examen de confirmation) : à partir d'écouvillon rectal, de sang ou des organes du chiot mort (duodénum, jéjunum et poumons).

Fiche technique : MALADIE DE CARRE (BOUNIAS, 2003 ; DUMON, 2005 ; JUBB *et al.*, 2007)

Agent infectieux : Paramyxoviridae, virus enveloppé à ARN

Prévalence : cosmopolite, devenu rare en France grâce à la vaccination mais résurgences périodiques lors de rupture d'immunité ou même dans les régions vaccinées lorsqu'un groupe de chiens naïf est exposé au virus

Pathogénie : transmission directe horizontale par les aérosols, voie d'entrée respiratoire, puis virémie ; les chiens ne développant pas une réponse immunitaire adaptée suffisante présentent une infection systémique des épithéliums

Symptômes : expression clinique plutôt vers l'âge de 12 à 16 semaine lors du déclin de l'immunité passive ; hyperthermie, dépression, anorexie, toux, conjonctivite, diarrhée et vomissements, évoluant vers la mort ou troubles neurologiques (convulsion, ataxie) ; lors d'atteinte de chiots nouveaux-nés, la symptomatologie est foudroyante (mort en quelques heures, d'un syndrome convulsif), différente de celle que l'on observe sur les chiots sevrés.

Diagnostic :

- Autopsie : Atrophie du thymus, œdème et consolidation pulmonaires, exsudat séreux à mucopurulent,
- Histopathologie :
 - Organes lymphoïdes : déplétion lymphocytaire dans le cortex des nœuds lymphatiques, le thymus et la rate,
 - Poumons : pneumonie broncho-interstitielle spécifique, syncitia de cellules épithéliales alvéolaires (spécifique quand présent),
 - Système nerveux central : démyélinisation de la substance blanche, dégénérescence axonale,
 - Corps d'inclusion (surtout vers 10 à 14 jours post-infection, puis disparaissent)
 - dans les tissus épithéliaux (cellules épithéliales des bronchioles, de la vessie du bassinet) : intracytoplasmiques,
 - Dans le système nerveux central (astrocytes) : intranucléaires et éosinophiles,
- Isolement du virus en culture (diagnostic de certitude) : très peu utilisé,
- PCR sur les organes du chiot mort ou sur le sang des adultes.

Fiche technique : MYCOPLASMOSE (BRUCHIM et LUTSKY, 1978 ; CHALKER, 2005 ; DUMON et MIMOUNI, 2005 ; LEIN, 1986 ; MIMOUNI, 1996)

Agents infectieux : *Mycoplasma canis*, *Ureaplasma urealyticum*, bactéries dépourvues de paroi appartenant à la classe des Mollicutes, hôtes saprophytes des muqueuses uro-génitales, mais dont la prolifération anormale dans le mucus vaginal ou prépuce peut provoquer troubles de la reproduction et mortalité néonatale (quand la concentration dépasse 10^6 UFC/mL)

Pathogénie : transmission aux chiots lors de la mise-bas à partir du tractus uro-génital de la mère

Symptômes :

- Chez les chiots : mortalité néonatale, faiblesse des chiots nouveaux-nés,
- Chez la lice : le plus souvent asymptomatique, infertilité ou hypofertilité, mise-bas prématuée, vaginite résistante aux traitements classiques,
- Chez le mâle : le plus souvent asymptomatique, balanoposthite, urétrite, prostatite, orchépididymite, œdème du scrotum, anomalies du sperme et infertilité.

Diagnostic :

- Sérologie : n'est pas utilisable chez le chien (manque de disponibilité et réactions croisées),
- Bactériologie : (technique la plus utilisée),
 - Chez la femelle : sur écouvillonnage vaginal (après désinfection de la vulve avec de l'éthanol à 70° et en utilisant un spéculum stérile),
 - Chez le mâle : sur la fraction spermatique (2^{ème} fraction) ou prostatique (3^{ème} fraction) de l'éjaculat,
 - Chez le chiot mort-né ou l'avortement : la présence de germes dans un organe interne (foie et rate) donc non contaminé par la flore vaginale lors du passage de la filière pelvienne est suffisante pour conclure à leur rôle pathogène,
- PCR : technique en cours de développement, plus accessible que la culture bactérienne.

Les mycoplasmes sont à suspecter en cas de

- **Diminution de taille des portées**
- Résorptions embryonnaires et **avortements**
- Chiots **prématués**
- **Mortalité néonatale** importante dans les premiers jours qui suivent la mise-bas

Cependant, les connaissances concernant ces agents pathogènes sont encore limitées et les études étudiant leur implication dans la mortalité néonatale chez le chien sont rares.

L'**hépatite de Rubarth**, aujourd’hui éradiquée en France peut engendrer mort subite ou syndrome de dépérissement du chiot.

Le **coronavirus** canin, dont la prévalence chez les chiens adultes est voisine de 50%, se traduit chez le chiot par une diarrhée transitoire et généralement non fatale. Des cas de mortalité ont été rapportés chez des chiots préalablement infectés par le parvovirus.

Le tableau 5 rappelle les différents agents infectieux sévissant en élevage canin et les symptômes observés sur les chiots infectés.

Tableau 5 : Agents infectieux majeurs en pathologie néonatale et symptômes observés

	Etiologie	Expression clinique
BRUCELLOSE	<i>Brucella canis</i>	Chiots chétifs Mort en 24-48h
HERPES VIROSE	Herpès virus canin type 1 (CHV-1)	Vocalisations Troubles nerveux (pédalage, opisthotonus) Atteinte oculaire Syndrome de dépérissement Mort subite
MALADIE DE CARRE	Paramyxovirus	Syndrome de dépérissement Vomissements, diarrhée Conjonctivite, toux Troubles neurologiques (convulsions, ataxie) Mort subite
HEPATITE DE RUBARTH	Adénovirus canin type 1 (CAV-1)	Syndrome de dépérissement Vomissements, méléna, douleur abdominale Muqueuses blanches, parfois jaunes Œdème cornéen (« kératite bleue ») Coma Mort subite
PARVOVIROSE	Parvovirus canin type 2 (CPV-2)	Diarrhée hémorragique Vomissements Léthargie, anorexie Déshydratation intense Mort subite
		} chiots de 6 à 12 semaines → nouveau-nés
MALADIE DU VIRUS MINUTE	Parvovirus canin type 1 (CPV-1)	Syndrome de dépérissement Troubles digestifs et respiratoires Mort subite
MYCOPLASMOSE	<i>Mycoplasma canis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Chiots faibles Anorexie Vocalisations Mort dans les premiers jours qui suivent la naissance

L’expression de ces atteintes virales et bactériennes par le chiot peut être très fruste et les symptômes, quand ils sont exprimés, sont non spécifiques.

La pathologie néonatale est un problème complexe avec une origine bien souvent multifactorielle (composante génétique, environnementale et infectieuse). L’âge du chiot, la

connaissance du déroulement de la mise-bas et des pratiques de l'élevage, le statut sanitaire de l'élevage vis-à-vis des principaux pathogènes, et la présence de troubles de la reproduction ou de symptômes sur les adultes permet parfois d'orienter le diagnostic. Mais les investigations cliniques sont limitées et il est nécessaire d'avoir recours à des examens complémentaires par des laboratoires spécialisés afin d'obtenir un diagnostic de certitude et proposer à l'éleveur des solutions thérapeutiques curatives et/ou préventives.

1.2. Les outils diagnostiques dont dispose le vétérinaire

Face à un problème de mortalité néonatale sévissant dans un élevage, le vétérinaire est amené à suivre une démarche d'investigation rigoureuse et codifiée. Celle-ci passe avant tout par une analyse précise du trouble et un bilan exhaustif de la situation de l'élevage. De cette « photographie » de l'élevage à un instant donné découlent les hypothèses diagnostiques, qu'il convient d'organiser en liste hiérarchisée. Ce n'est qu'une fois le bilan précis établi et les hypothèses diagnostiques soulevées que le praticien peut avoir recours aux examens complémentaires. Ceux-ci passent inéluctablement par l'autopsie d'un ou plusieurs chiots si possible, de chaque portée touchée. Au cours de l'autopsie, le vétérinaire réalise un certain nombre de prélèvements d'organes et de liquides biologiques en vue de la réalisation d'examens de laboratoire, parmi lesquels figure l'histopathologie.

1.2.1. L'anamnèse et les commémoratifs

Avant d'envisager la réalisation d'examens complémentaires, il convient de dresser un bilan anamnéstico-clinique du trouble affectant l'élevage. Pour cela, un recueil d'informations précises, si possible complété par une visite de l'élevage, est la première étape incontournable. Il permet dans certains cas d'exclure certaines étiologies, ou au contraire d'en suspecter d'autres, en particulier une atteinte infectieuse. Il comprend : (DUMON et MIMOUNI, 2005 ; FAVIER, 2001 ; PURSWELL, 1992)

- L'anamnèse complète du trouble : le nombre de portées touchées et la répétition du phénomène, l'étalon utilisé. Au sein de la portée, le nombre de chiots touchés et leur âge. Le but de cette démarche est d'orienter les recherches vers un trouble individuel (infectieux, génétique...) ou collectif (infectieux, alimentaire, toxique...),
- Les aspects sanitaires et médicaux : le statut vaccinal des chiens présents dans l'élevage est contrôlé, ainsi que les traitements antiparasitaires (fréquence d'administration et spectre d'activité des produits utilisés). L'historique de la mère permet de s'assurer de l'absence d'administration d'un principe actif tératogène au cours de la gestation, et donc d'exclure une origine iatrogène. Un examen clinique général des reproducteurs ainsi que des autres animaux présents dans l'élevage permet d'évaluer la présence de diarrhée, de toux, ou de lésions de l'appareil génital orientant vers une atteinte virale particulière. On recherche en particulier chez la

mère un état de fatigue, de malnutrition, une maladie débilitante, des écoulements vulvaires, une agalactie ou une mammite,

- Le détail complet des mouvements d'animaux, ainsi que les activités annexes de pension, dressage et expositions, et l'évaluation du risque qu'elles représentent,
- Le contrôle des conditions de logement et des installations, et en particulier l'existence de secteurs d'élevage séparés incluant : une maternité, un local pour les jeunes au sevrage et en croissance, pour les adultes, un local de quarantaine, ainsi qu'une infirmerie. L'observation des matériaux utilisés dans la conception des bâtiments permet d'évaluer l'efficacité théorique du nettoyage,
- La vérification de l'hygiène, le respect des protocoles de nettoyage et désinfection et la nature chimique des produits utilisés,
- L'appréciation de l'alimentation et de la salubrité de l'eau de boisson. La nature de l'aliment est vérifiée ainsi que les quantités données aux femelles en gestation, afin d'exclure d'éventuels déficits énergétiques ou carences vitaminiques.

1.2.2. L'examen nécropsique

L'examen nécropsique, ou autopsie, acte fondamental d'observation approfondie, est le point de départ de toute recherche d'étiologie face à un trouble de la reproduction en élevage canin. Il permet d'explorer un certain nombre de causes de mortalité (dépister des malformations congénitales, mettre en évidence un traumatisme ou une affection parasitaire, ou encore suspecter une origine infectieuse) et débouche sur la réalisation de prélèvements adaptés. Les observations réalisées au cours de l'autopsie permettent d'établir le schéma des examens complémentaires à mettre en œuvre par la suite. (CONVERS, 2001)

1.2.2.1. La technique de l'autopsie chez le chiot (BRAU et CASSELEUX, 2004)

La réalisation de l'autopsie d'un chiot peut déconcerter le praticien, en particulier à cause de la petite taille de l'animal. Il convient de faire preuve d'une grande minutie dans la dissection, un manque de soin pouvant conduire à passer à côté de lésions importantes ou encore à la contamination des prélèvements. Toutefois, avec un peu de temps et de rigueur, cet acte est à la portée de tous. La méthode décrite ici et utilisée à l'Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport permet d'obtenir un bon compromis entre le temps passé et les résultats obtenus.

1.2.2.1.1. Réception du chiot et recueil des commémoratifs

Dans la mesure du possible, l'autopsie doit être réalisée le plus rapidement possible après la mort des animaux, afin d'éviter les altérations cadavériques et les lésions d'autolyse. En attendant leur envoi, les cadavres sont conservés à + 4°C, emballés dans du papier journal humide, mais surtout pas congelés, la congélation compromettant la réalisation de l'analyse histopathologique.

Avant de commencer la dissection, il convient de prendre connaissance de l'anamnèse (présentation du trouble affectant l'élevage) et des commémoratifs (description la plus complète de l'élevage et de son fonctionnement), afin d'interpréter au mieux les lésions rencontrées au cours de l'autopsie et réaliser judicieusement les prélèvements en vue d'examens complémentaires. Les informations minimales requises concernent :

- Le chiot à autopsier : race, sexe, âge, signes cliniques observés avant la mort et traitements entrepris,
- L'historique de la portée,
- La mère : statut vaccinal et vermifugation, tests spécifiques réalisés, signes cliniques éventuels et traitements,
- Les caractéristiques de l'élevage : mouvements d'animaux, contrôles à l'introduction, sectorisation, protocole de nettoyage/désinfection,
- Les antécédents pathologiques dans l'élevage.

1.2.2.1.2. Examen externe du chiot

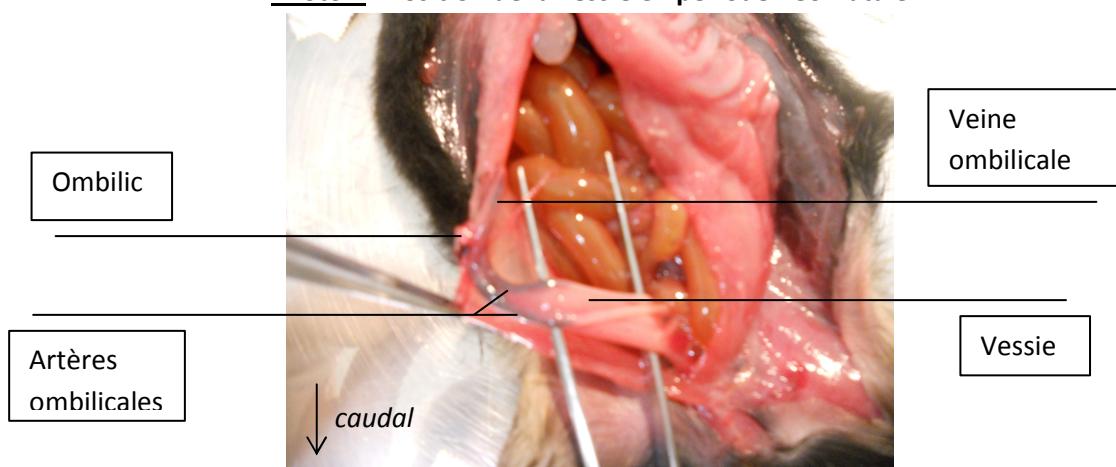
Pour chaque individu, une fois vérifiée la conformité de l'animal au descriptif annoncé, le chiot est minutieusement examiné, en portant une attention particulière :

- au tissu cutané, en particulier l'ombilic : recherche de signes d'infection,
- à la région périénale : recherche de signes de diarrhée, d'une imperforation de l'anus,
- à la cavité buccale : recherche de fente palatine,
- à la cavité nasale : recherche de liquide (lait, sérosités, sang...),
- aux coussinets : recherche d'ulcères.

1.2.2.1.3. Incision cutanée et dépouillement

Le cadavre est fixé au plateau en décubitus dorsal, au moyen de liens ou de sparadraps. Le tissu cutané est alors incisé au scalpel, l'ombilic contourné afin de ne pas léser les vestiges du cordon ombilical. En raison de la petite taille des animaux autopsiés, les veines jugulaires et axillaires ne sont pas ligaturées. La peau est ensuite réclinée, ce qui permet d'observer d'éventuels hématomes sous-cutanés, et d'apprécier l'état d'hydratation du chiot. La photo 1 montre la position de la vessie en période néonatale, juste sous la ligne blanche et reliée aux vestiges ombilicaux, d'où un nécessaire contournement de l'ombilic lors de l'incision afin de ne pas les léser.

Photo 1 : Position de la vessie en période néo-natale



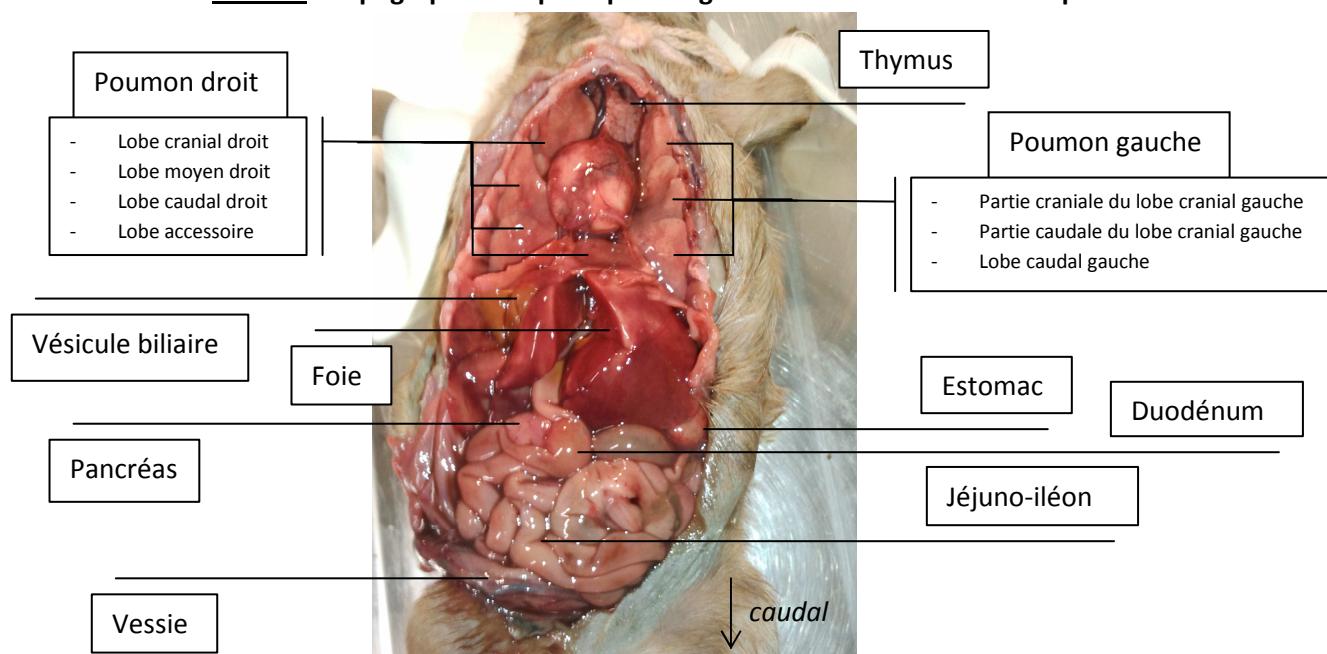
1.2.2.1.4. Ouverture des cavités abdominale et thoracique, examen des organes en place

L'ouverture de la cavité abdominale est effectuée aux ciseaux après ponction de la ligne blanche, en veillant à ne pas léser les organes abdominaux, en particulier la vessie, située juste sous la paroi abdominale en période néonatale. Avant de récliner les parois, on procède à la récolte d'un éventuel épanchement abdominal.

La présence du vide pleural est vérifiée par ponction du diaphragme avec la pointe du scalpel, une ponction qui ne provoque pas d'appel d'air traduisant une mortinatalité (le chiot n'a pas respiré) ou un pneumothorax (en cas d'écrasement). On peut alors détacher le diaphragme le long de son insertion et sectionner les côtes en préservant les poumons et le thymus situés juste au-dessous. En raison de la petite taille des animaux autopsiés, le recourt à un costotome n'est pas utile, les côtes pouvant être sectionnées à l'aides de ciseaux à bouts ronds. On procède enfin à la récolte d'un éventuel épanchement thoracique.

La topographie des organes en place, les anomalies de couleur, de forme, de volume sont observées au cours de ces étapes. La photo 2 présente la topographie normale des principaux organes observés à l'ouverture des cavités abdominale et thoracique.

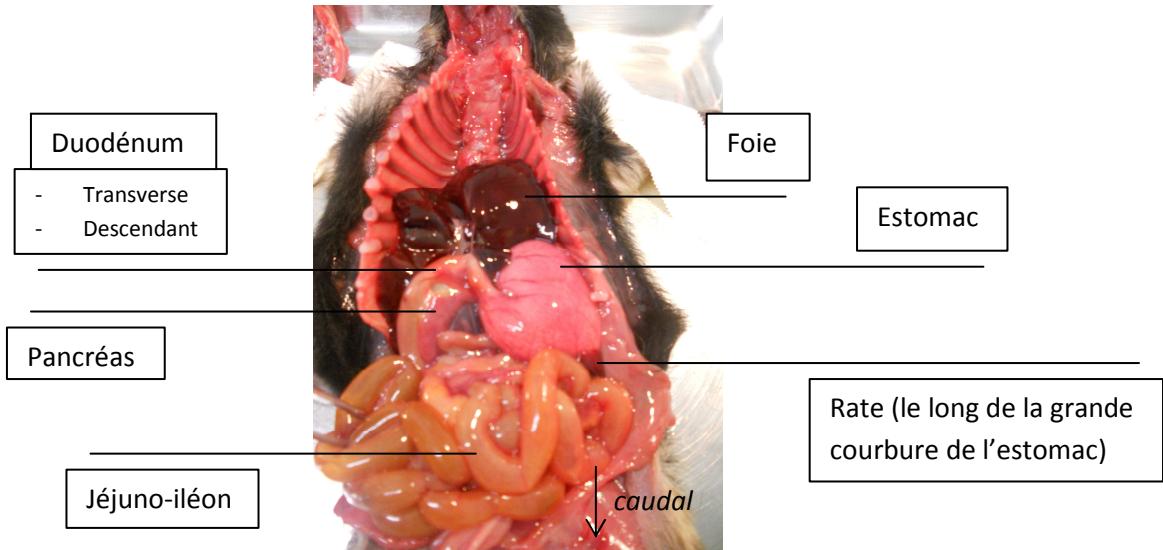
Photo 2 : Topographie des principaux organes abdominaux et thoraciques



1.2.2.1.5. Eviscération et observation des organes isolés

Le cadavre est entièrement éviscéré. Pour cela, on incise les muscles situés sur la face interne des mandibules et on détache le pharynx de ses attaches. On décolle ensuite la trachée et l'œsophage et on retire l'ensemble des organes avec précaution. La photo 3 montre la topographie des principaux organes abdominaux après retrait des organes de la cavité thoracique, le foie ayant été repoussé cranialement pour une meilleure visibilité des organes sous-hépatiques.

Photo 3 : Topographie des principaux organes abdominaux



Les différents organes sont alors séparés et observés l'un après l'autre, en procédant à des incisions.

➤ L'appareil cardio-respiratoire

Les poumons et les voies aériennes : on apprécie les éventuelles modifications de couleur, de volume et de consistance. L'incision du parenchyme pulmonaire permet de vérifier que les modifications observées, notamment les modifications de couleur, ne sont pas dues aux altérations *post-mortem* (stase cadavérique, oxydation...). La trachée est également incisée sur toute sa longueur : on en évalue le contenu (présence de lait, sérosités, sang) et l'état de la muqueuse.

Le cœur : on s'intéresse aux modifications de couleur ou de volume, et à la présence d'un éventuel épanchement péricardique. L'incision du cœur permet de vérifier la présence de caillots sanguins et l'état des valves cardiaques. La photo 4 montre l'aspect morphologique normal du cœur chez le chiot après section des gros vaisseaux.

Photo 4 : Aspect normal du cœur



➤ Le tube digestif

L'estomac : après inspection externe, il est incisé le long de la grande courbure afin d'en recueillir le contenu (parasites, lait non digéré...) et d'observer l'état de la muqueuse (ulcères, pétéchies...).

L'intestin : de même que l'estomac, après examen externe des différents segments, il est incisé sur toute sa longueur afin d'en observer le contenu (parasites, liquide hémorragique, non élimination du méconium...) et la muqueuse (pétéchies...).

➤ Les glandes annexes

Le foie : cet organe a la particularité d'être volumineux chez le nouveau-né. On observe sa consistance, sa couleur et ses bords avant de l'inciser, pour évaluer l'aspect et l'homogénéité du parenchyme. Les photos 5 et 6 montrent l'aspect normal du foie chez le chiot.

Photo 5 : Aspect normal du foie (face diaphragmatique)

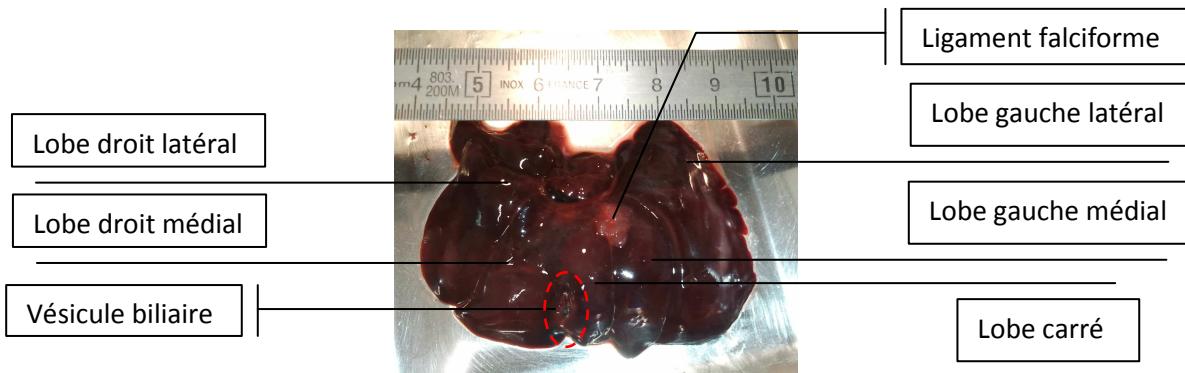


Photo 6 : Aspect normal du foie (face viscérale)

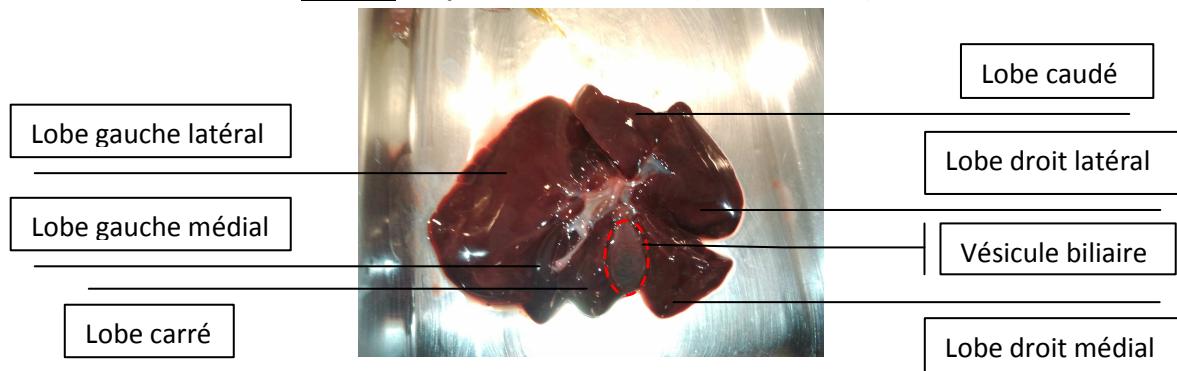


Photo 7 : Aspect normal du pancréas

Le pancréas : cette glande n'est pas facile à isoler et apporte peu dans l'examen nécropsique. La photo 7 montre l'aspect morphologique normal du pancréas chez le chiot, après séparation du duodénum.



➤ Les organes hémato-lympho-poïétiques

La rate : on observe son volume (augmenté lors d'euthanasie), sa consistance et sa couleur. Une coupe longitudinale permet de vérifier son aspect. La photo 8 montre l'aspect morphologique normal de la rate chez le chiot.

Le thymus : on observe son volume, sa consistance et sa couleur

Photo 8 :
Aspect normal de la rate



➤ **L'appareil urinaire**

Les reins : on observe leur volume et leur forme, leur consistance et leur couleur. Une coupe longitudinale permet d'apprécier le rapport entre la corticale et la médullaire, ainsi que le volume du bassinet.

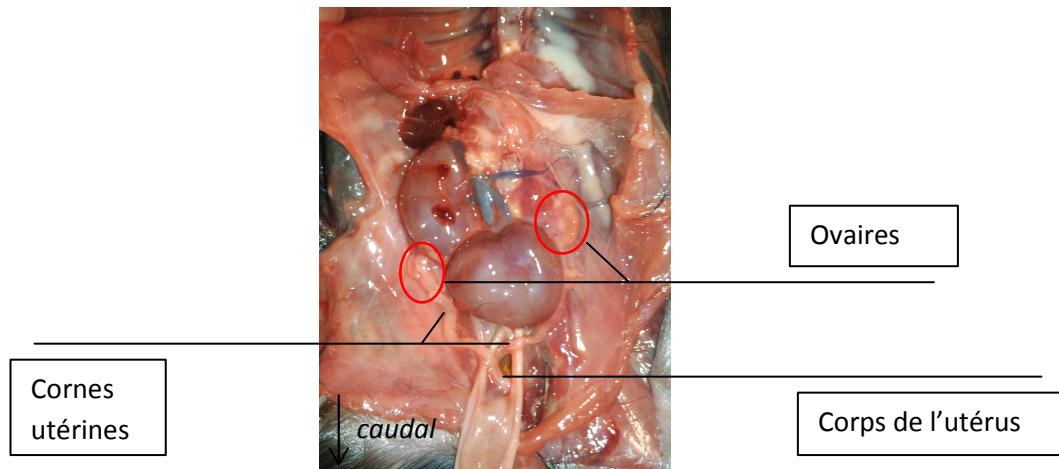
La vessie : elle est ouverte pour en vérifier le contenu et l'aspect de la muqueuse. La photo 9 montre l'aspect morphologique normal de la vessie chez le chiot une fois réclinée et incisée sur sa face dorsale.

Photo 9 : Aspect normal de la vessie après incision



➤ **L'appareil génital** est également contrôlé. La photo 10 montre la disposition et l'aspect morphologique normaux de l'appareil génital chez le chiot femelle après réclinaison du rein gauche et de la vessie.

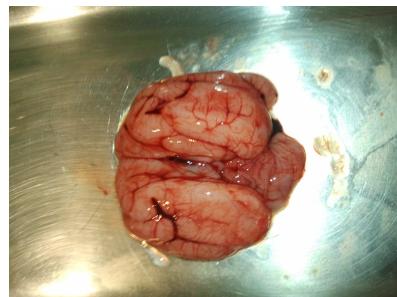
Photo 10 : Topographie des organes génitaux femelle



1.2.2.1.6. Ouverture de la boîte crânienne

Le cadavre est enfin placé en décubitus ventral, la tête dépoillée au scalpel puis la boîte crânienne ouverte à l'aide de ciseaux. La photo 11 montre l'aspect du cerveau chez le chiot après extraction de la boîte crânienne.

Photo 11 : Aspect normal de l'encéphale



1.2.2.1.7. Réalisation de prélèvements en vue d'examens complémentaires

L'échantillonnage est une étape critique préalable à tout examen de laboratoire. La qualité des échantillons conditionne la qualité des résultats obtenus. Les échantillons doivent donc être :

- Adaptés à ce que l'on recherche :
 - o Pour une analyse histopathologique : des morceaux d'organes, prélevés de manière atraumatique et soumis très rapidement à une fixation, afin d'inactiver les enzymes autolytiques,
 - o Pour une PCR : des fragments d'organes ou liquides biologiques ou produits d'écouvillonnage,
- Conservés dans de bonnes conditions : délai rapide après la mort, contenant stérile, milieu de conservation adéquat (formol pour analyse histopathologique), température de conservation (froid positif pour analyse histopathologique, négatif pour PCR),
- Correctement identifiés,
- Envoyés selon la règle du triple emballage
 - o Emballage primaire : pot à histopathologie ou tube à PCR, portant l'identification du prélèvement de manière indélébile,
 - o Emballage secondaire : étanche également, avec matériau capable d'absorber le liquide en cas de fuite de l'emballage primaire,
 - o Emballage tertiaire : carton solide, anti-choc, éventuellement isotherme, étiqueté selon la nature de l'échantillon,
- Accompagnés de commémoratifs clairs et précis : feuille de commémoratifs placée à l'extérieur du carton, facilement accessible.

1.2.2.2. Les lésions macroscopiques observables

La littérature rapporte un certain nombre de lésions classiquement observées à l'autopsie, en particulier lors d'atteinte infectieuse, bien que rarement pathognomoniques. Le tableau 6 présente les différentes lésions attendues à l'autopsie pour les différentes causes de mortalité présentées précédemment (BOUNIAS, 2003 ; CARMICHAEL *et al.*, 1965 ; DUMON, 1992 ; FAVIER, 2001 ; HOLLETT, 2006 ; JUBB *et al.*, 2007 ; MOSIER, 1974).

Tableau 6 : Lésions observables à l'autopsie en cas de mortalité chez le chiot

Etiologie	Lésions macroscopiques
SYNDROME HEMORRAGIQUE	Epanchements hémorragiques dans les grandes cavités Hémorragies pulmonaires
SYNDROME DU LAIT TOXIQUE	Congestion aiguë de l'ensemble des viscères Pétéchies
SEPTICEMIE NEONATALE	Ulcères cutanés sur les extrémités Congestion généralisée Pétéchies Péritonite sérofibrinée aiguë Météorisme intestinal, faible contenu digestif , entérite hémorragique Rate hypertrophiée et congestionnée Poumons congestionnés et/ou atélectasiés, liquide sereux à la coupe
BRUCELLOSE	Zone de nécrose au niveau de l'attache placentaire Dermite granulomateuse Congestion de l'ensemble des organes Hémorragies, œdèmes Hypertrophie des tissus lymphoïdes (nœuds lymphatiques, rate, plaques de Peyer)
HERPES VIROSE	Epanchements hémorragiques dans les grandes cavités Hémorragies et nécrose du foie, des poumons, du cœur et de la muqueuse intestinale Pétéchies sur les reins, valves cardiaques, et sous la séreuse digestive Reins déformés en « œuf de dinde » (hypertrophiés et mottelés) Foie mottelé , parfois liséré jaune au bord caudal Splénomégalie Œdème pulmonaire, exsudat sanguinolent dans la trachée et les bronches Congestion méningée
MALADIE DE CARRE	Atrophie du thymus Œdème et consolidation pulmonaires, exsudat sereux à mucopurulent
HEPATITE DE RUBARTH	Péritonite fibrinée Hémorragies sur la séreuse stomacale Œdème de la vésicule biliaire Hépatomégalie, congestion, foie friable, mèches de fibrine sur la capsule Nœuds lymphatiques œdémateux, congestionnés, hémorragiques Atrophie du thymus Œdème pulmonaire
PARVOVIROSE	Déshydratation Muqueuses pâles Œdèmes, ascite, hydrothorax Exsudation fibrinée Hémorragies intestinales segmentaires ou généralisées, congestion sévère de la muqueuse intestinale , dilatation segmentaire de l'intestin grêle avec contenu muqueux à fluide ou hémorragique Nœuds lymphatiques mésentériques hypertrophiés et congestifs Atrophie du thymus Congestion pulmonaire
MALADIE DU VIRUS MINUTE	Hémorragies et nécrose du cerveau, foie, reins, poumons, tissus lymphoïdes et muqueuse intestinale

	Œdème et atrophie du thymus Nœuds lymphatiques hypertrophiés et de consistance molle
MYCOPLOASMOSE	Voir « Septicémie néonatale »

Une autre approche consiste à recenser les lésions classiquement observées à l'autopsie et y faire correspondre les différentes étiologies possibles. On obtient le tableau 7, aide à l'établissement d'un diagnostic différentiel lors de la réalisation de l'autopsie (BLUNDEN, 1988).

Tableau 7 : Lésions fréquemment rencontrées à l'autopsie lors de mortalité chez le chiot et leur orientation diagnostique

	Lésions observées	Interprétation
Abdomen		
Cavité péritonéale	Epanchement sérohémorragique, adhérences fibrineuses Hémorragies	Péritonite bactérienne (infection ombricale...), infection par le CAV-1 ou le CHV-1 Dystocie, trouble de la coagulation héréditaire (maladie de von Willebrand)
Foie	Hépatomégalie, foie mottelé, pétéchies, tâches focales blanchâtres à jaunes	Infection par le CAV-1 ou le CHV-1, micro-abcès
Reins	Rupture de la capsule et hémorragies Pétéchies/ecchymoses	Dystocie Caractéristique de l'infection par le CHV-1, parfois septicémie (pétéchies plus petites et moins nombreuses)
Rate Vessie Estomac	Augmentation de taille, hémorragies Estomac vide	Infection par le CHV-1 Famine (défaut de sécrétion lactée de la mère, chiots mal maternés), Fadding Puppy Syndrome
Intestins	Congestion, hémorragies Invagination Rétention de méconium, constipation	Entérite bactérienne ou virale Conséquence d'une entérite, une infestation par des vers ronds Chiot mort-né, défaut de stimulation de la région uro-génitale par la mère
Thorax		
Poumons	Œdème, congestion, consolidation, adhésions fibrineuses avec la paroi thoracique	Pneumonie/pleurésie *
Trachée/bronches	Lait Hémorragies, fluide en excès	Fausse déglutition lors du repas Inhalation de liquides fœtaux/vaginaux, lésion pulmonaire

Cœur	Epanchement péricardique, hémorragies, pétéchies Anomalie congénitale	Possibles lors de septicémie ou infection virale Rarement fatal pendant la période néonatale
------	--	---

* Pneumonie et pleurésie sont des lésions très fréquemment rencontrées à l'autopsie, et peuvent être la conséquence de l'inhalation de liquide vaginal, d'une aspiration de lait, ou encore d'une septicémie. Il s'agit le plus souvent de bactéries du genre Pasteurella. Le test de flottaison est généralement positif (coule) mais pas toujours (si le morceau coule, cela indique une consolidation par pneumonie ou atélectasie chez un chiot mort-né qui n'a pas respiré). La confirmation de la présence d'une pneumonie nécessite le recours à l'histopathologie.

Après avoir relevé minutieusement toutes les observations notables et dressé une liste d'hypothèses diagnostiques, le vétérinaire procède aux prélèvements d'organes et liquides biologiques nécessaires à la réalisation d'examens de laboratoire ciblés.

1.2.3. Les examens de laboratoire

1.2.3.1. La virologie

La virologie est une méthode de diagnostic direct visant à mettre en évidence l'agent pathogène viral.

Bien qu'intéressante en cas d'herpès virus, de parvovirus, coronavirus ou adénovirus, elle est peu utilisée en pathologie néonatale, du fait des contraintes techniques qu'elle suppose : acheminement au laboratoire très rapide et sous respect strict de la chaîne du froid (grande thermosensibilité de l'herpès-virus en particulier). (BOUNIAS, 2003 ; DUMON, 2005)

Elle a également longtemps été utilisée pour la recherche du virus de la maladie de Carré, par inoculation de sécrétions de chiens infectés à des furets (entrant leur mort dans les 10 à 14 jours, mais sans effet sur les individus préalablement traités avec un inoculum à base d'anticorps spécifiques du virus), ou par isolement de sécrétions nasales ou conjonctivales ou encore de liquide céphalo-rachidien chez des individus atteints d'encéphalite aiguë (APPLE, 1971). Bien que très spécifique, cette technique longue, coûteuse et délicate est donc rarement mise en œuvre en pratique.

La virologie a aujourd'hui laissé la place à des techniques modernes, plus rapides et moins fastidieuses.

1.2.3.2. La sérologie

La sérologie est une méthode de diagnostic indirect visant à mettre en évidence des anticorps dirigés contre l'agent infectieux.

Mise en œuvre en cas de suspicion d'herpès virus, coronavirus ou adénovirus, elle nécessite 2 prélèvements sanguins à 15 jours d'intervalle : on réalise une cinétique d'anticorps afin de mettre en évidence une séroconversion (BOUNIAS, 2003 ; FAVIER, 2005). Lors de maladie de Carré, elle peut s'avérer utile mais pas toujours car les animaux atteints de la forme aiguë de la maladie de Carré peuvent ne jamais produire d'anticorps (APPEL, 1971). On peut également réaliser la recherche d'anticorps sur le LCR pour les formes nerveuses, mais une fois de plus, un résultat négatif ne permet pas d'exclure la maladie (BOUNIAS, 2003).

Elle est également utilisée dans le cadre de la recherche de *Brucella canis*, l'agent de la brucellose, pour lequel de très nombreux tests sont disponibles, tels que test d'agglutination rapide sur lame. Ce test a une forte valeur prédictive négative, il est donc efficace pour détecter les animaux non infectés. En cas de résultat positif par contre, comme il existe des risques de faux positif, il devrait toujours être complété par un autre test (CARMICHAEL, 1971), comme le test d'agglutination sur tube, l'immunofluorescence indirecte, l'immunodiffusion sur gel d'agar, la méthode ELISA... Un délai d'apparition des anticorps est possible, jusqu'à 8 à 12 semaines après exposition, et le titre en anticorps peut fluctuer malgré une bactériémie persistante, le titre ne reflétant pas l'avancée de la maladie. (HOLLETT, 2006)

1.2.3.3. La bactériologie

La bactériologie devrait être systématique car le microbisme d'élevage, avec des germes classiques tels que les Staphylocoques, les Streptocoques, les colibacilles et les salmonelles, est la première hypothèse à éliminer. Elle est pourtant rarement réalisée en raison des contraintes techniques qu'elle impose : le prélèvement doit en effet avoir lieu dans la ½ heure suivant la mort du chiot, sous asepsie stricte (reins, poumons, foie, rate et/ou sang cardiaque), il est alors réfrigéré à +4°C, et la mise en culture doit être réalisée moins de 36 heures après la mort du chiot. (FAVIER, 2005 ; MOSIER, 1974)

Dans le cas particulier de la brucellose, où une culture positive sur les animaux suspects est un diagnostic définitif, un prélèvement sanguin est possible même très longtemps après l'infection. Les animaux présentent une bactériémie dès 2 à 4 semaines après exposition oro-nasale et celle-ci persiste entre 1 et 3 ans. Cependant, le nombre d'organismes circulants dans les leucocytes est généralement faible et de multiples prélèvements sanguins sont nécessaires afin de les mettre en évidence. Les bactéries peuvent également être isolées à partir du lait de la femelle infectée, des sécrétions vaginales après avortement, des placentas et tissus fœtaux, de l'éjaculat du mâle (fractions spermatique et prostatique), des nœuds lymphatiques, moelle osseuse et urine. (HOLLETT, 2006)

Bien que la culture des mycoplasmes canins soit relativement aisée, les vétérinaires y ont rarement recours. En effet, peu de laboratoires proposent cette culture en routine. Ceci est probablement dû au coût des milieux de culture et à la nécessité d'examiner chaque colonie au microscope afin de confirmer le type morphologique. (CHALKER, 2005)

1.2.3.4. La PCR

La PCR enfin, technique d'amplification du génome de l'agent infectieux, est la méthode de choix pour le diagnostic de toutes les viroses canines et de la brucellose. C'est la méthode la plus sensible (donc la plus fiable pour limiter les faux négatifs), et la plus spécifique (donc la plus fiable pour limiter les faux positifs).

Elle permet généralement la détection de l'agent infectieux à partir d'un grand nombre d'organes, et permet de passer outre la fenêtre restreinte de détection des anticorps dans le cas d'agents pathogènes faiblement immunogènes comme l'Herpès virus, où la réponse immunitaire est de courte durée (FAVIER, 2001). Ainsi, dans le cadre d'une infection par l'Herpès virus canin, la détection des anticorps anti-CHV-1 chez les adultes n'est possible qu'entre 2 et 3 mois post-infection ou réactivation : au-delà, l'Herpès virus canin étant très faiblement immunogène, le titre en anticorps chute de façon drastique et ceux-ci ne sont plus détectés (VERSTEGEN *et al.*, 2008). La PCR permet de s'abstenir des faux négatifs de la sérologie.

1.2.3.5. L'histopathologie

Le terme histologie, du grec *histos* (ἱστός) le tissu, et *logos* (λόγος) le discours, désigne l'étude des tissus. Ce terme est introduit dans les sciences médicales par un médecin biologiste et physiologiste français, Marie François Xavier Bichat (1771-1802), à la fin du XVIII^e siècle. Il définit alors un tissu comme un ensemble de cellules ayant des caractères morphologiques analogues. La classification distingue 4 tissus de base, voire 5 pour certains histologistes (qui considèrent le tissu adipeux comme une catégorie à part), chacun constitué de plusieurs sous-types : (BANKS, 1993)

- Le tissu épithélial
- Le tissu conjonctif
- Le tissu musculaire
- Le tissu nerveux
- Le tissu adipeux

Les organes sont constitués de sous-types de ces différents tissus, en quantité variable et selon des structures architecturales variées.

L'histologie moderne est une science sophistiquée qui s'intéresse aux structures des tissus et à leur fonction selon une approche multidisciplinaire. Nous verrons tout d'abord la technique de préparation des lames histologiques en vue de leur observation microscopique, puis la méthodologie de lecture de ces lames et les lésions majeures rencontrées en pratique courante.

1.2.3.5.1. La préparation des lames histologiques (ANTOINE, 2010 ; SANDRITTER, 1974 ; BANKS, 1993)

Afin d'observer les tissus, des cryosections sont réalisées. La réalisation des coupes se fait à partir de blocs tissulaires d'une taille de 1cm x 1cm environ. Ces prélèvements, réalisés avec soin au cours de l'autopsie, subissent une série d'étapes préalables à leur section. La technique d'inclusion en paraffine, simple et fiable, est la plus communément utilisée par les histologistes.

1.2.3.5.1.1. La fixation

La fixation a pour but d'immobiliser les tissus dans un état aussi proche que possible de l'état vivant tout en assurant leur conservation et les préparant à la suite des traitements. La fixation s'oppose en effet à l'autolyse des constituants cellulaires sous l'effet des enzymes par dénaturation de ces protéines ; mais aussi à la distorsion des tissus en utilisant un agent chimique de fixation qui agit en inactivant les molécules qui pourraient modifier la morphologie tissulaire tout en préservant l'intégrité du tissu. Cette étape a également d'autres effets : la protection contre l'attaque bactérienne, puisque le tissu peut être dégradé sous l'influence de bactéries. On évite ainsi putréfaction (ou décomposition *post-mortem*), cytolysé, autolyse et desquamation. Elle permet enfin d'insolubiliser certains constituants tissulaires et favorise leur durcissement.

Cette étape est réalisée dès le stade de l'autopsie. Dès leur prélèvement, les tissus sont placés dans un volume de fixateur équivalent à 15 à 20 fois le volume de la pièce. De nombreux agents peuvent être utilisés comme fixateurs (formaldéhyde, glutaraldéhyde, alcool éthylique, acide acétique, acide picrique...), chacun possédant des propriétés différentes, lui conférant des avantages et des inconvénients propres. Les aldéhydes étant de bons fixateurs sans propriété de coagulation, donc ne résultant pas en des changements structuraux importants, on utilise classiquement le formol en solution tamponnée à 10% (car le formaldéhyde non tamponné se dégrade en acide avec le temps et risquerait de dégrader la pièce anatomique). La préparation de cette solution de formol 10% se fait par mélange de 10 volumes de formol commercial (40% de formaldéhyde dans de l'eau) avec 90

volumes d'un tampon phosphate à pH 7,2. Les prélèvements sont laissés en place dans le liquide fixateur au minimum pendant 48 heures afin de permettre une bonne imprégnation.

1.2.3.5.1.2. La circulation

Pour fournir des coupes d'une épaisseur de 5 à 10 µm, les tissus doivent avoir une certaine consistance. La rigidité des tissus après fixation étant insuffisante pour réaliser les coupes au microtome, les pièces sont plongées dans une série de bains adéquats afin d'obtenir une rigidité suffisante pour permettre de les manipuler sans risque de détérioration et faciliter la confection des coupes.

La circulation, ou inclusion, consiste à éliminer l'eau des tissus pour favoriser la pénétration dans le tissu d'une substance qui va lui donner sa rigidité. Le plus souvent, il s'agit de la paraffine. La paraffine est un milieu non miscible à l'eau et à l'éthanol, qui est solide à température ambiante et liquide à une température pouvant aller de 45 à 60°C.

La circulation est divisée en 3 étapes :

- La déshydratation

La déshydratation débarrasse le tissu de l'eau qu'il contient, la plupart des fixateurs étant majoritairement constitués d'eau. L'agent déshydratant n'est miscible qu'avec l'eau contenue dans les tissus et pénètre ainsi facilement dans les cellules.

L'utilisation d'alcool absolu (100%) provoquerait une déformation des tissus ainsi qu'une rétraction et un durcissement. Les prélèvements sont donc placés dans des bains successifs d'agent déshydratant, (éthanol, butanol, dioxane, isopropanol...) en concentration croissante jusqu'à l'éthanol absolu.

- L'éclaircissement

L'éclaircissement n'est nécessaire que si on a utilisé un agent déshydratant non miscible à la paraffine, tel que le 2-propanol. Cette étape, également appelée « désalcoolisation », consiste à remplacer l'alcool présent dans les tissus par un liquide miscible avec la paraffine.

L'alcool est remplacé par un solvant anhydre dont l'indice de réfraction est élevé et dont l'effet est d'augmenter la transparence des tissus. Parmi les agents éclaircissants, on retrouve des hydrocarbures benzéniques dont le plus utilisé est le xylène [$C_6H_4(CH_3)_2$].

- L'imprégnation

Le but de l'imprégnation est de donner au tissu une consistance homogène et un support intérieur. Cette étape consiste à éliminer l'agent éclaircissant du tissu et à le remplacer par de la paraffine. Elle a donc lieu à une température proche du point de fusion de la paraffine, aux environs de 60°C, la paraffine nécessitant d'être à l'état liquide pour pouvoir pénétrer correctement dans les tissus.

1.2.3.5.1.3. L'enrobage

L'enrobage est une étape qui consiste à donner au prélèvement un support externe pour permettre de réaliser des coupes au microtome. L'inclusion dans un bloc de paraffine rend les manipulations plus aisées. Elle permet d'entreposer les pièces, de les identifier plus facilement. Elle

assure également une meilleure conservation pendant de longues périodes. L'enrobage fait suite à la circulation, le milieu d'enrobage doit être le même que celui ayant servit à l'imprégnation.

Pour la réalisation des blocs, les objets sont retirés des cassettes et déposés dans des moules métalliques de taille adaptée, à l'aide d'une pince, en veillant à orienter correctement la pièce selon l'incidence de coupe désirée. Les moules sont alors immergés dans des bains successifs de paraffine en concentration croissante, à une température comprise entre 50 et 68°C, correspondant à la zone de fusion de la paraffine.

Les moules sont ensuite refroidis, le plus rapidement possible, pour permettre le durcissement de la paraffine. Si les blocs sont refroidis trop lentement, de gros cristaux de paraffine se forment, qui nuisent à la confection des coupes. Plus le tissu est dur, plus il faut refroidir le bloc, afin de réduire la différence de dureté entre le tissu et la paraffine. Les coupes sont en effet plus faciles à réaliser et de meilleure qualité lors de dureté homogène des divers éléments du bloc.

Une fois la paraffine solide, au bout de 15 minutes environ, le bloc peut être démoulé et stocké.

1.2.3.5.1.4. Les coupes

Les coupes sont réalisées l'aide d'un microtome, d'une épaisseur de 5 à 10 µm. Avant de procéder à la coupe proprement dite, il faut enlever la mince couche de paraffine qui recouvre le tissu. Cette étape s'appelle le « rabotage » et consiste à enlever le surplus de paraffine. Pour cela, on sélectionne une épaisseur de 10 à 30 µm et on commence à réaliser des coupes successives. Dès que toute la surface de la pièce est accessible au couteau, on sélectionne l'épaisseur de coupe désirée pour les tissus.

1.2.3.5.1.5. L'étalement

Une fois les coupes réalisées, elles sont placées dans un bain d'eau chaude à une température d'environ 48°C. La tension de surface étant plus faible, l'étalement des coupes est plus facile. Celles-ci sont alors récupérées et étalées sur des lames en verre. Les lames présentent des charges positives qui permettent de lier la coupe à la lame et augmentent ainsi l'adhérence.

L'excès d'eau est éliminé en inclinant la lame sur du papier absorbant. On les laisse d'abord sécher à température ambiante, puis on les place dans une étuve à 37°C pendant un minimum de 12 heures pour un séchage correct.

1.2.3.5.1.6. La coloration

Avant la coloration, on déparaffine les coupes en les plongeant dans un bain de xylène. Les coupes sont alors colorées, puis le colorant en excès, facilement soluble, est éliminé par différenciation dans l'eau, l'alcool ou les acides faibles. La coupe est éclaircie au xylène. Une dernière étape, le montage, permet de conserver les lames en bon état pour une longue période. Le milieu de montage dépend du dernier solvant utilisé. On peut enfin recouvrir la lame d'une lamelle.

1.2.3.5.2. La lecture d'une lame au microscope

La lecture d'une lame au microscope nécessite, outre de solides connaissances en anatomie, histologie et physiologie, une parfaite rigueur d'esprit. Il est nécessaire de s'astreindre à une méthode de lecture stricte et complète afin d'avoir une analyse complète du tissu, tout en évitant les pièges de lecture et une mauvaise interprétation des artéfacts.

1.2.3.5.2.1. La méthode de lecture (BANKS, 1993)

L'étude histologique débute dès l'obtention de la lame, avec un examen à l'œil nu : on examine la distribution de la couleur (tendance acidophile ou basophile), la présence ou l'absence de vides (lumière d'un organe), l'architecture globale, qui peut attirer l'attention sur certaines régions... La progression consiste à examiner la lame du plus faible grossissement vers le plus fort. En effet, chaque passage au grossissement supérieur entraînant une réduction du champ de vision, on a plus d'informations mais sur moins de tissu. Il faut donc avancer progressivement, en notant les observations à chaque étape.

Si on comprend la morphologie du tissu, la couleur n'a pas d'importance. Elle peut être une aide à la lecture mais le bon histopathologiste peut s'en passer (pour prouver la microscopie électronique à transmission où les images apparaissent en noir et blanc).

On peut considérer que la fiabilité de la coupe (par rapport à l'ensemble de l'organe) est suffisante à partir du moment où l'échantillon est représentatif, ce qui souligne une fois de plus l'importance d'un bon échantillonnage au cours de l'autopsie.

La difficulté de lecture consiste à convertir des sections en 2 dimensions en structures en 3 dimensions.

1.2.3.5.2.2. Les pièges de l'histologie (BANKS, 1993)

La difficulté de la lecture d'une lame au microscope réside dans l'interprétation d'une structure en 3 dimensions vue en 2 dimensions. Par exemple, bien que toutes les cellules aient un noyau, ils ne seront pas tous traversés par une seule section (car pas tous dans le même plan). L'observation d'organes tubulaires en coupe transversale, longitudinale ou oblique donne des images variées à interpréter avec précautions par rapport aux images de référence. Ainsi, la lumière d'un organe coupé obliquement apparaîtra beaucoup plus large que si l'organe avait été traversé strictement transversalement.

1.2.3.5.2.3. Les artéfacts de lecture (BANKS, 1993)

Les artéfacts sont des altérations de la structure biologique dont l'apparition est liée à la méthode utilisée lors de la préparation et qui peuvent provoquer une erreur de lecture. Il ne faut en effet pas les confondre avec des lésions tissulaires. Ainsi, un enrobage incomplet peut entraîner la perte d'une région de tissu à la coupe ; un lavage du colorant insuffisant est à l'origine de précipités de couleur au sein des tissus ; une inégalité du couteau provoque une inégalité de coupe, avec des portions plus épaisses qui apparaissent plus denses ; un mauvais affutage du couteau a pour effet de « râper » la paraffine, avec apparition de rides à la lecture si la section n'est pas bien étalée sur la lame.

1.2.3.5.3. Les lésions microscopiques observables par appareil

1.2.3.5.3.1. Histopathologie de l'appareil digestif

Bien que les différentes régions de l'intestin présentent certaines particularités adaptées à leur fonction d'absorption et de sécrétion, elles partagent toutes un certain nombre de traits communs. L'intestin est constitué de 4 couches cellulaires, de la lumière vers la périphérie : la *muqueuse*, la *sous-muqueuse*, la *musculeuse* et la *séreuse*. (BANKS, 1993)

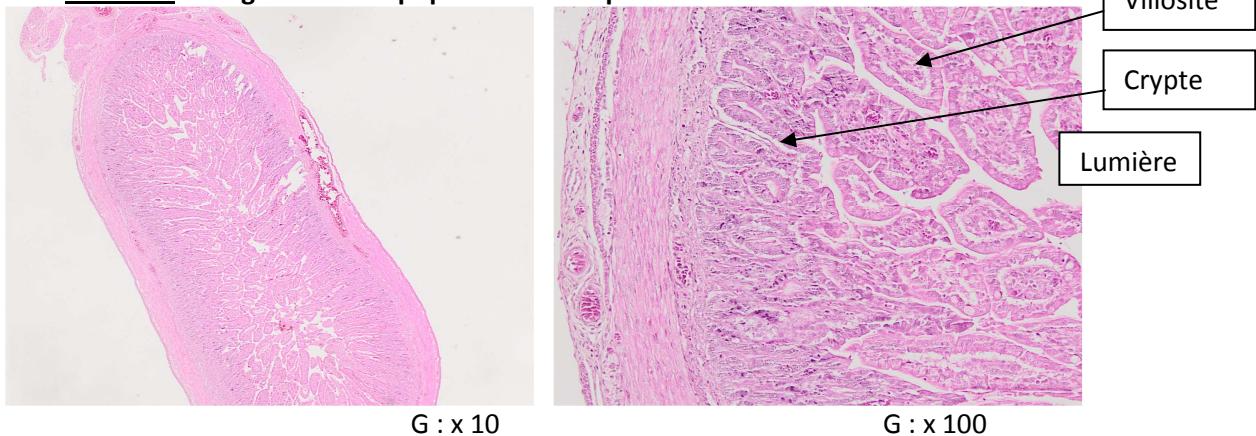
Les *cryptes* intestinales s'ouvrent à la base de chaque *villus* comme des invaginations tubulaires simples.

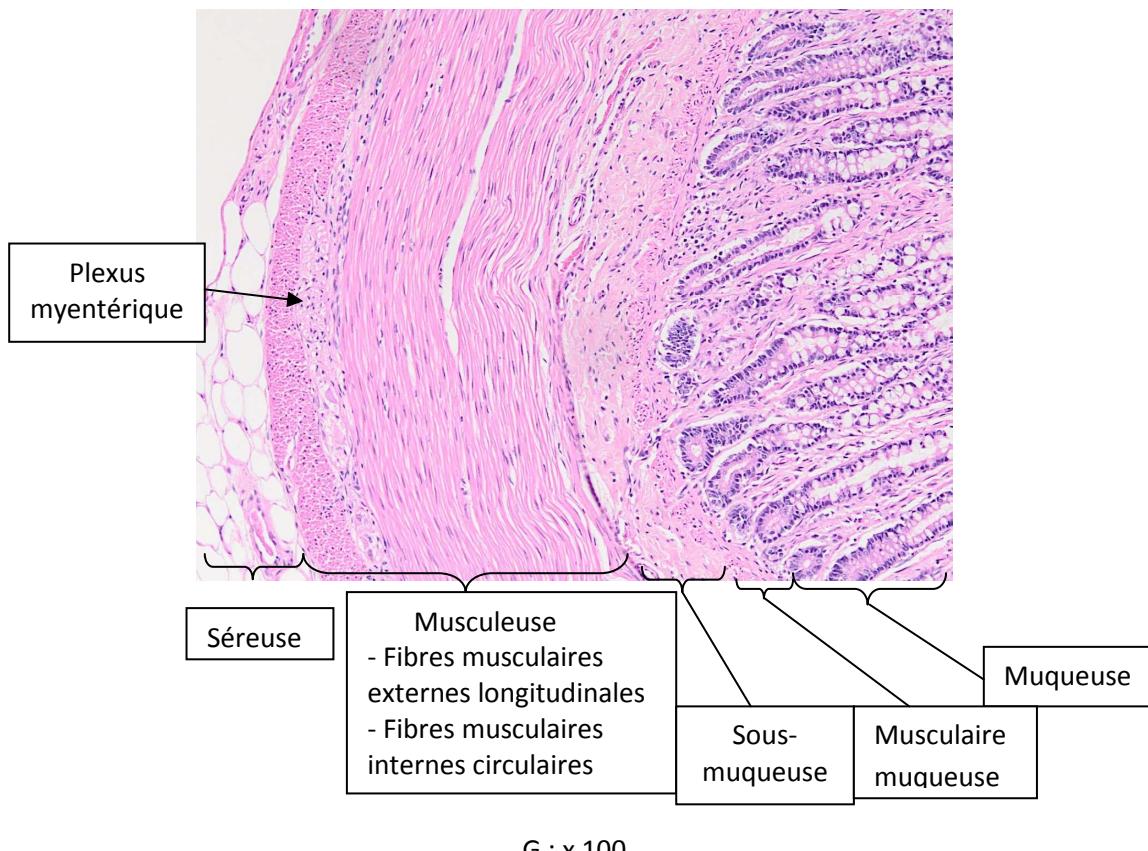
Pour faire un diagnostic histopathologique sur une coupe de tractus gastro-intestinal, il faut noter le contenu cellulaire de certaines couches, tenir compte des pertes de substance de la muqueuse et des proliférations glandulaires atypiques. On peut ainsi observer : (SANDRITTER, 1974)

- **La gastrite** : elle présente histologiquement l'aspect d'une infiltration cellulaire de la muqueuse (lymphocytes, histiocytes, plasmocytes ou granulocytes en cas de gastrite aiguë). Les plis épaissis ont perdu leur finesse.
- **L'ulcère gastrique** : le faible grossissement montre une perte de substance pariétale s'étendant jusqu'à la muscleuse. Au fond de l'ulcère on observe une zone gris claire et rouge (fibrine) et une zone plus foncée (nécrose et tissu de granulation).
- **L'entérite** : de nombreux agents pathogènes et leurs toxines sont à l'origine d'un état de choc, qui s'accompagne de troubles de la circulation sanguine. Chez le chien, on peut considérer l'intestin comme un des organes qui souffrent le plus du choc. Les troubles de la microcirculation se manifestent d'abord par une congestion des villosités, à laquelle s'associe une exsudation vers le chorion. La stase provoque une nécrose circonscrite de la pointe des villosités. L'exsudat décolle les cellules épithéliales qui constituent, avec la fibrine, un amas homogène. Finalement, tout le tiers supérieur des villosités se nécrose et on observe, au stade terminal, une large zone de cellules nécrotiques avec des débris nucléaires, un exsudat et des leucocytes.

La photo 12 montre l'aspect microscopique normal d'une coupe d'intestin de chiot à faible et moyen grossissement. On y observe la structure pluristratifiée s'organisant autour d'une lumière.

Photo 12 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : absence d'anomalie





1.2.3.5.3.2. Histopathologie des glandes annexes

Pour porter un diagnostic histopathologique sur une coupe de foie, il faut se rappeler quelques faits anatomiques fondamentaux. Le *lobule hépatique* constitue l'unité fondamentale. Le repère en est l'*espace porte*, contenant le canal bilaire (épithélium cylindrique), l'artère (paroi épaisse et musculaire), et les rameaux veineux portaux. Les travées de cellules épithéliales accompagnées de leurs vaisseaux sinusoïdes sont orientées vers la veine centro-lobulaire.

Dans les lésions pathologiques, il faut vérifier le contenu cellulaire des espaces portes, l'intégrité des cellules hépatiques et des travées cellulaires, la cellularité du parenchyme (cellules de Kupffer) et les dépôts de pigments et d'autres substances. Les principales lésions du foie sont : (SANDRITTER, 1974)

- **L'atrophie du foie** : au cours de l'atrophie de certains viscères, en particulier du cœur et du foie, on peut mettre en évidence un accroissement de la quantité de lipofuscine. Le pigment apparaît nettement sur une coupe histologique à la coloration par l'hématoxyline sans surcoloration par l'éosine.

A l'examen macroscopique, le viscère apparaît diminué de taille, de coloration brune, entouré d'une capsule ridée.

A l'examen microscopique, on reconnaît dès le faible grossissement la présence d'une teinte brunâtre au centre du lobule. Au fort grossissement, on distingue les granulations brunâtres dans le cytoplasme, avec de moins en moins de pigment au fur et à mesure qu'on s'éloigne du centre du lobule. En outre, on remarque une atrophie des hépatocytes avec diminution de la taille des cellules et rapprochement des noyaux.

- **La sidérose hépatique** : il s'agit d'un dépôt de pigment riche en fer, qui provient souvent de la dégradation de l'hémoglobine, dans le cytoplasme des hépatocytes et des cellules de Kupffer.

A l'examen macroscopique, on note un foie de coloration brune, non diminué de taille, souvent associé à une sidérose d'autres viscères (pancréas, rate, glandes salivaires...)

A l'examen microscopique, le pigment apparaît en jaune brunâtre sur les colorations à l'hémostoxine. À l'opposé de la lipofuscine, l'hemosidérine siège principalement à la périphérie du lobule, avant tout dans la zone cytoplasmique qui est la plus proche du pôle biliaire de la cellule. La ligne de séparation entre deux travées d'hépatocytes apparaît ainsi accentuée.

- **L'ictère :**

A l'examen macroscopique, on note un foie de coloration brun et or.

A l'examen microscopique, les pigments biliaires apparaissent sous forme de granulations dans le cytoplasme des hépatocytes et sous forme de concrétions cylindriques dans les conduits biliaires.

- **La stéatose hépatique** : les lipides des cellules ne sont pas visibles à l'état normal. Lorsque les graisses apparaissent sous forme de gouttelettes dans le cytoplasme, cet état est désigné par le terme de stéatose. On distingue la stéatose hépatique périlobulaire (stéatose nutritionnelle), centrolobulaire (stéatose anoxique ou toxique), et la stéatose diffuse.

A l'examen macroscopique, on note un foie volumineux et mou avec une tranche de section jaune.

A l'examen microscopique, sur une coupe à la paraffine, on observe des cavités optiquement vides correspondant aux gouttes graisseuses dissoutes.

- **Le foie de stase** : la stase sanguine au niveau du foie, à la suite d'une gêne au retour veineux vers le cœur droit, intéresse d'abord le centre du lobule.

A l'examen macroscopique, on observe un foie volumineux et ferme. Sur la tranche de section, le centre des lobules apparaît rouge sombre et la périphérie d'un brun plus clair.

A l'examen microscopique, on observe au faible grossissement une coloration rouge du centre des lobules. Aux grossissements moyen et fort, les sinusoides apparaissent élargis et remplis de très nombreux erythrocytes. Les travées hépatocytaires sont comprimées par l'élargissement des sinusoides et subissent une atrophie par compression.

- **L'hépatite et la cirrhose** : il s'agit d'une destruction des hépatocytes (nécrose) avec réaction mésenchymateuse secondaire sous forme de tissu de granulation, modification de l'architecture du tissu hépatique et régénération parenchymateuse.

Cas de l'hépatite virale aiguë : l'hépatite virale offre un aspect histologique caractéristique, de sorte que dans la majorité des cas l'examen microscopique permet le diagnostic étiologique.

A l'examen macroscopique, on note un foie augmenté de volume, à bord mousse, dont la surface et la tranche de section sont tachetées de jaune et de rouge brunâtre.

A l'examen microscopique, au faible grossissement, on est frappé par l'élargissement et l'infiltration cellulaire des espaces portes, par des infiltrats cellulaires très petits au niveau du parenchyme, et par la conservation de l'architecture hépatique normale. Le grossissement moyen montre des infiltrats lymphocytaires des espaces portes, mélangés

à quelques granulocytes, et qui s'étendent vers le parenchyme. Entre les travées hépatocytaires on trouve des cellules de Kupffer volumineuses et des histiocytes.

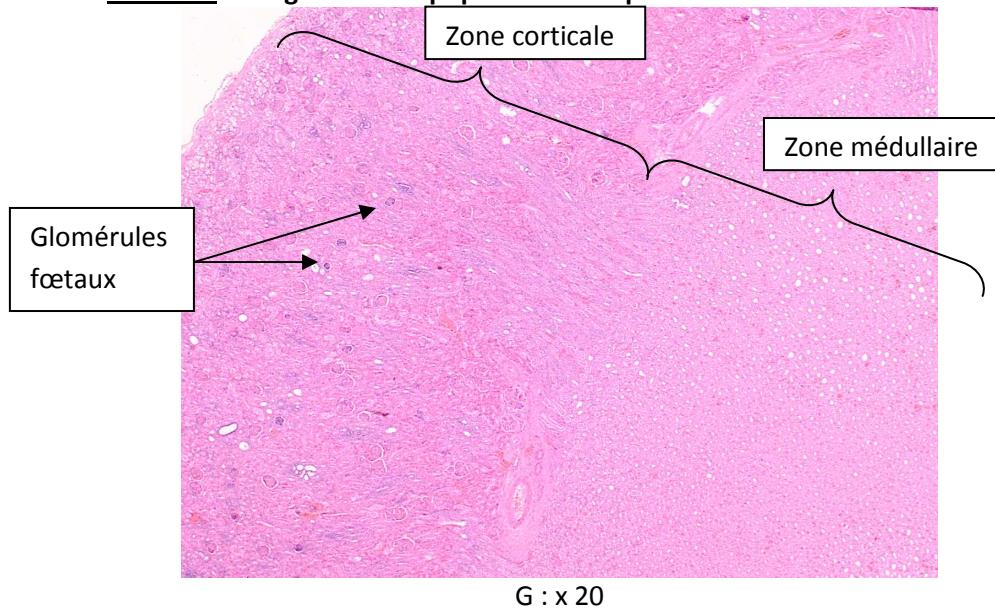
1.2.3.5.3.3. Histopathologie de l'appareil urinaire

Lors de l'examen histopathologique de coupes de rein, on doit procéder selon les règles suivantes : évaluation de l'épaisseur de la *corticale* et de la *médullaire* au faible grossissement, altérations vasculaires (en particulier à la jonction cortico-médullaire), *glomérules* (contenu cellulaire, état de la membrane basale...), *tubes* (calibre, dépôts cytoplasmiques, secteurs intéressés), *interstitium* (épaisseur, cellularité, richesse en fibres conjonctives). Les principales lésions attendues sont : (SANDRITTER, 1974)

- **Le rein de stase** : il apparaît volumineux, avec des étoiles veineuses en surface, et présente une coloration rouge foncé, en particulier des pyramides. Les glomérules sont congestifs et l'espace capsulaire renferme des protéines. Il existe en outre un œdème interstitiel.
- **Les reins polykystiques** : il s'agit d'une malformation rénale héréditaire, le plus souvent bilatérale, caractérisée par de nombreux kystes. L'aspect microscopique est dominé par l'existence de nombreux kystes, le plus souvent optiquement vides ou remplis d'amas homogènes éosinophiles, au niveau de la médullaire et de la corticale. Entre les zones kystiques, on peut mettre en évidence de rares vestiges de parenchyme fonctionnel mais souvent atrophié.
- **La néphrite** : les inflammations rénales se déroulent soit dans les glomérules, soit dans l'interstitium.
 - o **La gloméronéphrite** : c'est une inflammation diffuse des glomérules, déclenchée par une réaction antigène-anticorps.
A l'examen macroscopique, on observe le plus souvent de gros reins de coloration gris blanchâtre, succulent, avec parfois présence de pétéchies.
A l'examen microscopique, on remarque l'augmentation de taille et de cellularité des glomérules. Les anses sont élargies et contiennent de nombreux granulocytes. La chambre glomérulaire et les tubes contiennent des erythrocytes, des protéines et des granulocytes. L'interstitium est élargi par un œdème et contient quelques leucocytes.
 - o **La pyélonéphrite** : elle secondaire à une infection ascendante (*Escherichia coli* par exemple) des voies urinaires, ou plus rarement d'origine hématogène.
A l'examen macroscopique, on observe des abcès groupés et déprimés.
A l'examen microscopique, on remarque, au niveau d'une ou plusieurs pyramides médullaires, des poynucléaires dans l'interstitium et dans les tubes rénaux. Lorsque la maladie progresse, il se développe des abcès de la corticale.
 - o **La néphrite interstitielle** :
A l'examen macroscopique, la surface rénale apparaît bosselée.
A l'examen microscopique, on observe des infiltrats inflammatoires dans l'interstitium, qui dissocie les tubes les uns des autres.

La photo 13 montre l'aspect histologique normal d'une coupe de rein de chiot au moyen grossissement. On y reconnaît les zones corticale (sombre) et médullaire (claire).

Photo 13 : Image microscopique d'une coupe de rein : absence d'anomalie



1.2.3.5.3.4. Histopathologie de l'appareil circulatoire

Le *muscle strié* du cœur, dont les noyaux cellulaires ovales siègent au milieu des fibres, forme une enveloppe en réseau présentant des anastomoses étroites. Entre les fibres myocardiques se trouve un tissu conjonctif lâche avec des capillaires ou des vaisseaux de calibre plus important. L'*endocarde* est constitué d'une seule couche d'endothélium, recouvrant une couche lâche de fibres élastiques et de collagène. Les *valvules cardiaques* sont également recouvertes d'endothélium et contiennent des fibres collagénées et élastiques. L'*épicarde* et le *péricarde* ont un revêtement cellulaire. Au niveau de l'épicarde, on observe constamment du tissu adipeux d'abondance variable.

Lorsqu'on évalue les lésions histopathologiques de myocarde, il faut prendre en considération l'épaisseur des fibres, d'éventuels dépôts au niveau du sarcoplasme, les noyaux cellulaires et le contenu cellulaire du tissu interstitiel. Dans les conditions pathologiques, l'épicarde et le péricarde sont fréquemment recouverts de fibrine. On peut ainsi observer : (SANDRITTER, 1974)

- **L'hypertrophie et l'atrophie cardiaques** : en cas d'hypertrophie cardiaque, les fibres myocardiques ont une épaisseur presque triple et le nombre de noyaux par unité de surface paraît ainsi diminué ; en cas d'atrophie cardiaque, les fibres sont nettement plus étroites que dans le cœur normal, et on compte un nombre plus important de noyaux par unité de surface. L'atrophie du myocarde s'accompagne fréquemment d'une multiplication des lipofuscines (atrophie brune).
- **La dégénérescence graisseuse** : elle peut être consécutive à un défaut d'apport d'oxygène, par anémie ou par hypoxie.

A l'examen macroscopique, le myocarde présente un aspect tigré sur fond gris-rouge.

A l'examen microscopique, dès le faible grossissement, on peut mettre en évidence un aspect strié du myocarde (encore plus marqué en coloration rouge Soudan) : des zones

de fibres myocardiques infiltrées de graisse alternent régulièrement avec des zones intactes de façon à dessiner un aspect tigré.

- **L'infarctus myocardique** : il constitue une nécrose de coagulation ischémique due à une anoxie par obstruction des artères coronaires (thrombose, rétrécissement des artères coronaires, ou très rarement embolie).

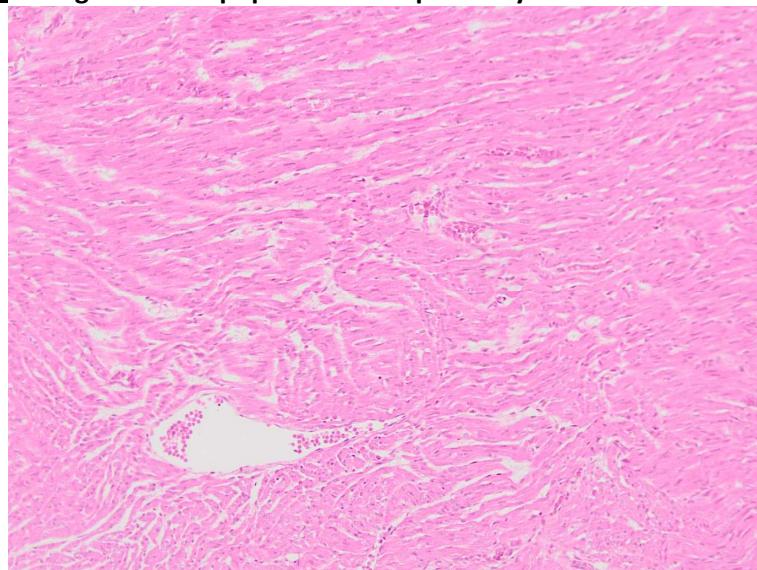
A l'examen macroscopique, on observe une zone ferme et sèche de coloration jaune argile lors des infarctus récents, qui évolue en tissu de granulation rouge en quelques semaines, et enfin en tissu cicatriciel blanc nacré et ferme.

A l'examen microscopique, un œdème initial des fibres laisse place au bout de quelques heures à une réaction de nécrose (fibres homogènes ayant perdu leur striation et leur noyau), délimitée par une large bordure de leucocytes. Un infarctus moins récent en cours d'organisation se reconnaît à l'invasion d'un tissu de granulation riche en cellules et renfermant des capillaires élargis. Enfin, au stade de cicatrice myocardique, on observe un épaissement par du tissu collagène pauvre en cellules.

- **La myocardite** : la myocardite se caractérise par un œdème interstitiel de type inflammatoire. Dans le cas d'une myocardite purulente à la suite d'une colonisation par des bactéries ou des emboles infectants, on observe des abcès myocardiques dont le centre comprend des colonies bactériennes, au sein d'une infiltration dense de granulocytes neutrophiles avec fonte tissulaire dans ce territoire.

La photo 14 montre l'aspect histologique normal d'une coupe de myocarde de chiot au moyen grossissement.

Photo 14 : Image microscopique d'une coupe de myocarde : absence d'anomalie



G : x 100

1.2.3.5.3.5. Histopathologie des organes hématopoïétiques

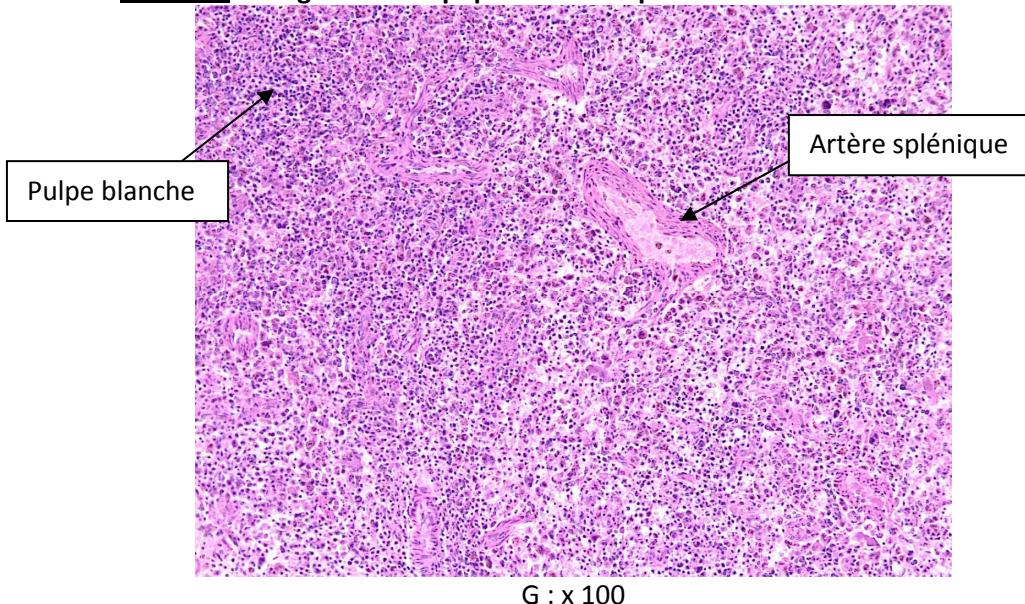
La rate du chien est riche en trabécules et en fibres musculaires mais pauvre en pulpe blanche. La *capsule*, bien délimitée, est constituée d'une couche superficielle fibro-élastique, et

d'une couche plus profonde de cellules musculaires lisses. Les *trabécules* fibromusculaires contiennent des vaisseaux sanguins qui se projettent dans la pulpe rouge. (ADAM *et al.*, 1970)

Au cours de altérations pathologiques de la rate, il faut vérifier dans quelle mesure l'architecture normale des trabécules, des sinus de la pulpe rouge et de la pulpe blanche est respectée. Il faut évaluer en particulier : le contenu en sang, la charpente fibrillaire, la nature et le nombre des cellules, les dépôts anormaux.

La photo 15 montre l'aspect histologique normal d'une rate de chiot au moyen grossissement.

Photo 15 : Image microscopique d'une coupe de rate : absence d'anomalie



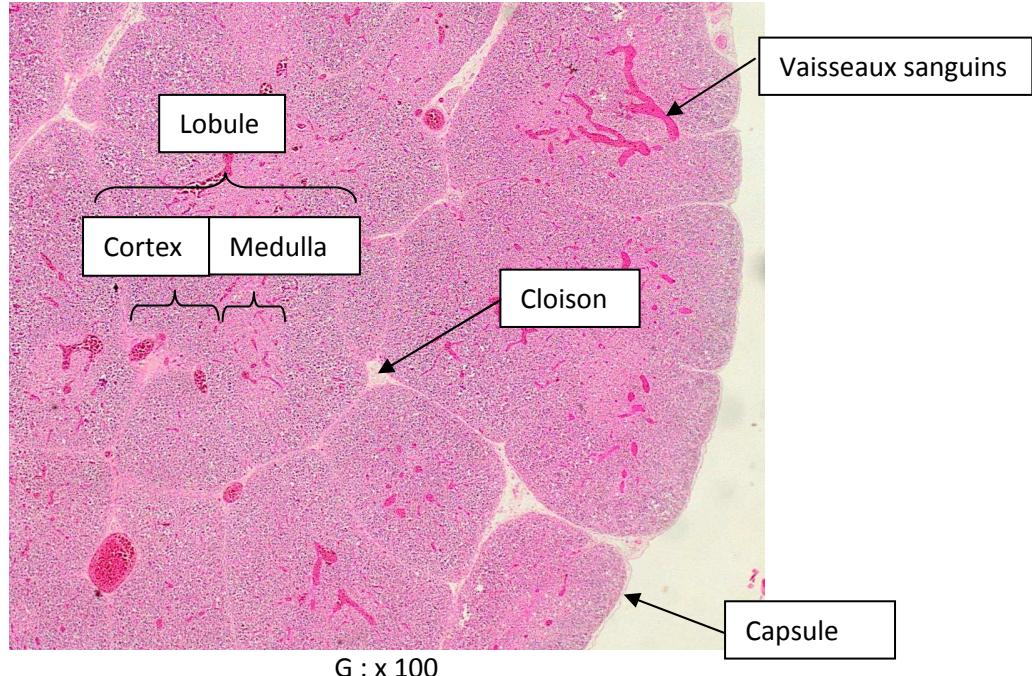
Les nœuds lymphatiques du chien possèdent une *capsule* bien délimitée contenant des fibres élastiques et musculaires lisses. La plupart des *follicules* sont localisées dans la *corticale* et sont entourés au moins en partie par des sinus lymphatiques. Dans la *médullaire*, le tissu lymphoïde se constitue de travées de cellules lymphocytes. (ADAM *et al.*, 1970)

Lors de l'examen microscopique des nœuds lymphatiques, on précise si l'architecture normale est conservée ou détruite et on examine en détail les sinus (contenu cellulaire, nature des cellules) et les follicules (taille, type cellulaire). En cas de lymphadénite non spécifique par exemple, la structure du nœud lymphatique est conservée, et on observe des granulocytes, histiocytes et cellules endothéliales des sinus desquamées à l'intérieur des sinus. (SANDRITTER, 1974)

Le thymus est un organe lobulé distinct localisé dans le médiastin pré-cardiaque et entouré d'une fine *capsule*. La substance *médullaire* n'est pas clairement séparée de la *corticale*. Des rémanences thymiques sont présentes chez les chiens de tout âge. (ADAM *et al.*, 1970) On y observe des corpuscules de Hassal, structures non pathologiques produisant des hormones.

La photo 16 montre l'aspect microscopique normal d'une coupe de thymus de chiot au moyen grossissement. On y reconnaît la disposition en lobules séparés par des trabécules, ainsi que l'organisation cortico-médullaire.

Photo 16 : Image microscopique d'une coupe de thymus : absence d'anomalie



1.2.3.5.3.6. Histopathologie de l'appareil respiratoire

Les lésions pulmonaires sont fonction de l'agent causal, la voie d'entrée dans le poumon, ainsi que la durée d'évolution de la maladie. Selon l'aspect morphologique (site initial et évolution), on distingue les bronchopneumonies, pneumonies interstitielles ou broncho-interstitielles, bronchites, ou encore pneumonies emboliques. L'aspect histopathologique permet de qualifier l'atteinte de fibrineuse, suppurée, granulomateuse, nécrotique, proliférative ou encore fibrosante. La durée d'évolution enfin nous renseigne sur le caractère aigu, subaigu ou chronique de l'affection. (JUBB *et al.*, 2007)

Les lésions macroscopiques et microscopiques suffisent à classer l'atteinte, même si l'étiologie précise n'est pas toujours identifiée. Connaître le schéma pathologique permet cependant d'imaginer l'étiologie la plus probable, la voie de transmission, la pathogénie.

Les lignes directrices du diagnostic des altérations pathologiques sont les suivantes : l'atteinte pulmonaire est-elle diffuse ou en foyers ? Les lésions pathologiques concernent-elles le contenu des alvéoles ou des bronches, ou leurs parois ? Les cavités (alvéoles, bronches) sont-elles dilatées ou non ? Le tissu pulmonaire est-il conservé ou détruit ? Une fois une réponse apportée à chacun de ces points, il est possible de porter une appréciation exacte sur la lame. Les lésions pulmonaires les plus fréquemment rencontrées sont les suivantes : (SANDRITTER, 1974 ; JUBB *et al.*, 2007)

- **L'emphysème pulmonaire** : il s'agit d'un agrandissement des alvéoles pulmonaires associé à une atrophie et une fonte des septa interalvéolaires.

A l'examen macroscopique, une sensation de « crépitement » a lieu lors de la pression du parenchyme lésé entre les doigts.

A l'examen microscopique, on observe des cavités optiquement vides de grande taille par comparaison avec le tissu pulmonaire normal, et qui sont limitées par des septa

interalvéolaires très minces. Les septa interalvéolaires résiduels ayant l'aspect de moignons et faisant saillie à l'intérieur des cavités sont caractéristiques.

- **L'atélectasie pulmonaire** : elle consiste en une diminution du volume gazeux pulmonaire avec collapsus des alvéoles, souvent dans le territoire de division d'une bronche.

A l'examen macroscopique, les poumons sont de coloration violacée foncée, ou présentent des secteurs déprimés à limites nettes, de consistance ferme et élastique et de coloration violacée.

A l'examen microscopique, on observe des alvéoles dont les parois sont presque accolées, de sorte que le contenu cellulaire du tissu pulmonaire paraît avoir augmenté.

NB : l'atélectasie est physiologique au stade fœtal, avant la première inspiration du chiot nouveau-né.

- **L'œdème pulmonaire** : c'est une exsudation de sérum sanguin dans les alvéoles.

A l'examen macroscopique, les poumons sont lourds et la tranche de section laisse sourdre un liquide spumeux.

A l'examen microscopique, le faible grossissement montre que les alvéoles sont remplies d'un liquide homogène, éosinophile, dépourvu de cellules au fort grossissement. On ne reconnaît que quelques cellules alvéolaires desquamées et isolées. Les capillaires sont hyperhémiques. Dans certaines régions, la préparation de la coupe a fait disparaître le liquide des alvéoles, expliquant l'existence de cavités optiquement vides (artéfacts).

- **La bronchopneumonie** : il s'agit d'une lésion exsudative à la jonction broncho-alvéolaire, intéressant le plus souvent les lobes crâniaux-ventraux, et caractérisée par la présence dans les bronchioles et les alvéoles de granulocytes neutrophiles et éventuellement de fibrine ou de macrophages.

Les principales causes de bronchopneumonie sont le développement de bactéries opportunistes et la pneumonie d'aspiration (arrivée massive de bactéries outrepassant les défenses pulmonaires, suite à un gavage par exemple, des vomissements, une fente palatine, ou encore une atteinte neurologique entraînant un mauvais fonctionnement du larynx).

A l'examen macroscopique, on observe une consolidation du poumon, qui prend une couleur rouge sombre à grise. Un liquide catarrhal ou purulent suinte à la coupe. La disposition des lésions suit une tendance lobaire à lobulaire.

NB : un changement de couleur sans modification de la consistance évoque une simple congestion ou des hémorragies

A l'examen microscopique, les bronchioles et alvéoles se révèlent remplies de granulocytes neutrophiles et débris, mucus, fibrine et macrophages. On observe une infiltration des septa inter-alvéolaires. Lors de stade débutant, on note la présence d'œdème et d'atélectasie ; alors qu'un stade avancé montre des phénomènes de suppuration et d'infiltration lymphoplasmocytaire. Une nécrose épithéliale suggère une atteinte virale. La mort de l'animal peut survenir dès 20 à 40% du volume pulmonaire atteint, non pas par insuffisance respiratoire, mais par toxémie.

- **La pneumonie broncho-interstitielle** :

A l'examen microscopique, on observe une nécrose épithéliale des bronchioles, ainsi que des lésions alvéolaires diffuses (en cas de virus aérogène).

NB : à ne pas confondre avec une bronchopneumonie, où les bronchioles et alvéoles sont remplies de leucocytes à cause de l'infection bactérienne, mais sans nécrose épithéliale.

La septicémie est une cause majeure de pneumonie interstitielle chez le nouveau-né (JUBB *et al.*, 2007). Les septa inter-alvéolaires apparaissent épaissis et de forte cellularité (macrophages et neutrophiles). Dans les cas avancés, on observe une congestion et un exsudat sérofibrineux dans la lumière des alvéoles.

1.2.3.5.3.7. Histopathologie de l'encéphale

Lors de l'examen d'une coupe microscopique d'encéphale, il convient dans un premier temps de préciser l'état des **méninges** (cellularité, altérations vasculaires, dépôt de substances étrangères). La *substance nerveuse* se divise en neurones avec leurs prolongements (dendrites) et la gaine de myéline, les cellules gliales (astrocytes et cellules de la microglie), et les vaisseaux. Il faut vérifier la structure de l'ensemble du tissu, qui est respectée ou altérée (foyers de ramollissement, foyers de démyélinisation), et rechercher les infiltrats au sein du tissu nerveux ou dans les zones péri-vasculaires. (SANDRITTER, 1974)

Les lésions de l'encéphale classiquement attendues sont les suivantes :

- **Le ramollissement cérébral** : il s'agit de la nécrose du tissu cérébral, avec liquéfaction et formation d'une cavité secondaire suite à l'occlusion d'une branche artérielle ou à une hypoxie.

A l'examen macroscopique, on note une consistance molle de l'encéphale avec liquéfaction, éventuellement associée à des hémorragies, et une pâleur de la substance grise.

A l'examen microscopique, on distingue le stade précoce, au cours duquel on observe un œdème en foyers entre les fibres nerveuses et dans l'espace péri-cellulaire, ainsi qu'une destruction des gaines de myéline et un début de caryolyse des cellules de la glie ; et le stade avancé, au cours duquel a lieu la résorption du matériel libéré par la destruction des gaines de myéline, et où l'on observe des corps granulo-grasseux (cellules de la microglie ayant une activité macrophagique et histiocytes des espaces péri-veineux).

- **Les hémorragies cérébrales** : elles peuvent être la conséquence d'une hypertension artérielle, d'embolies gazeuses, ou encore d'une encéphalite hémorragique.

A l'examen macroscopique, on observe des points hémorragiques qui ne disparaissent pas quand on les essuie.

A l'examen microscopique, les hémorragies se traduisent par des foyers arrondis de très nombreux erythrocytes.

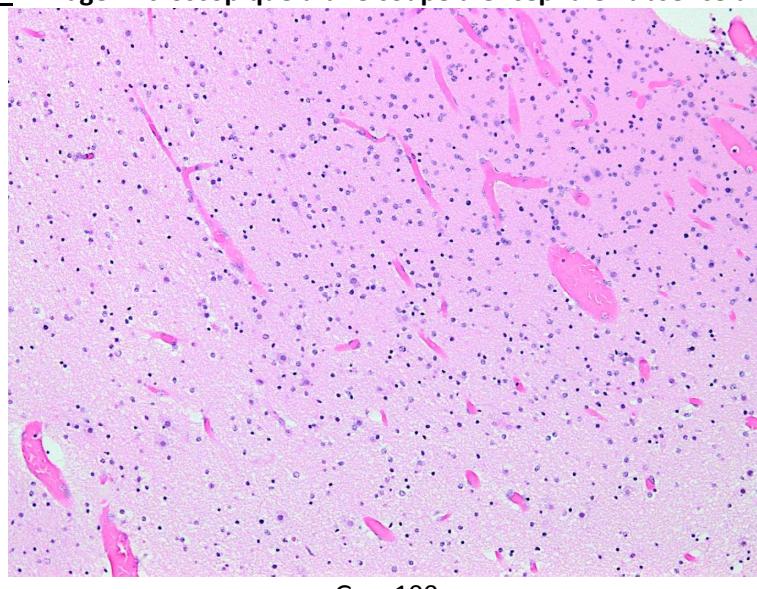
- **La méningite** : consiste en une infiltration cellulaire des méninges. Les méningites peuvent être classées selon leur étiologie (bactérienne, mycosique...), leur durée d'évolution (aiguë ou chronique) et selon le type d'exsudat (fibrineux, purulent...). (JUBB *et al.*, 2007) La caractérisation de d'exsudat est très utile, non seulement parce qu'elle indique les lésions histologiques attendues, mais aussi parce qu'elle présume de l'étiologie clinique. Ainsi, la méningite purulente est de loin la forme la plus courante chez les animaux domestiques, et en particulier chez les nouveaux-nés. La forme sérocellulaire est décrite dans les phases tardives d'inflammation virale. Une forme hémorragique peut advenir très occasionnellement dans certaines septicémies. La forme fibrineuse est liée à la fièvre catarrhale maligne et la

chlamydiose, et la forme granulomateuse à certaines infections systémiques telles que la tuberculose ou la cryptococcose.

Les infections virales du système nerveux central entraînent typiquement une inflammation non suppurée. Les lésions ne sont pas spécifiques mais le tropisme des virus pour différentes cellules peut donner des indications quant à l'étiologie : ainsi, le virus de la maladie de Carré infecte les cellules de l'endothélium vasculaire tandis que d'autres virus infectent les cellules de la glie.

La photo 17 montre l'aspect normal d'une coupe d'encéphale de chiot au moyen grossissement.

Photo 17 : Image microscopique d'une coupe d'encéphale : absence d'anomalie



G : x 100

1.2.3.5.4. Les lésions microscopiques en fonction de l'étiologie

Le tableau 8 présente les différentes lésions attendues à l'histopathologie en fonction des différentes causes de mortalité présentées précédemment. (CARMICHAEL *et al.*, 1965 ; CARMICHAEL et KENNEDY, 1968 ; FAVIER, 2001 ; HOLLETT, 2006 ; JUBB *et al.*, 2007)

Tableau 8 : Lésions observables à l'histopathologie en cas de mortalité chez le chiot

Etiologies	Lésions microscopiques
SEPTICEMIE	<ul style="list-style-type: none"> <u>Rein</u> : glomérulonéphrite
NEONATALE	<ul style="list-style-type: none"> <u>Rate</u> : congestion, dégénérescence des follicules lymphoïdes, hyper-cellularité des sinus <u>Poumon</u> : pneumonie interstitielle : septa épaisse, infiltration de macrophages et de neutrophiles, congestion, exsudat séro-fibrineux dans la lumière des alvéoles <u>Système nerveux central</u> : encéphalomyélite suppurée
BRUCELLOSE	<ul style="list-style-type: none"> Lésions granulomateuses associées à une vasculite nécrotique <u>Rein</u> : hémorragies focales avec infiltration lymphocytaire <u>Foie</u> : hépatite <u>Cœur</u> : myocardite <u>Poumon</u> : bronchopneumonie <u>Peau</u> : dermite granulomateuse

HERPES VIROSE	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Reins</u> : hémorragies et nécrose dans l'épaisseur du cortex, nécrose tubulaire et glomérulaire, infiltration par des cellules mononucléées • <u>Foie</u> : foyers de nécrose de coagulation, infiltration mononucléée périportale, œdème interstitiel • <u>Rate</u> : nécrose périvasculaire, déplétion lymphocytaire • <u>Tube digestif</u> : foyers de nécrose dans les cryptes, hémorragies de la muqueuse • <u>Cœur</u> : nécrose de coagulation avec prolifération de cellules mononucléées et infiltration périvasculaire par des lymphocytes, myolyse, œdème interstitiel • <u>Poumons</u> : pneumonie broncho-interstitielle, nécrose alvéolaire multifocale • <u>Système nerveux central</u> : méningo-encéphalite nécrotique non suppurée, foyers de microgliose et astrogliose, hémorragies, œdème, infiltration périvasculaire par des cellules mononucléées • Corps d'inclusions acidophiles et basophiles intranucléaires dans les glomérules rénaux, les macrophages et cellules épithéliales pulmonaires et le foie (rarement observés, seulement en cas de lésions récentes)
MALADIE DE CARRE	<ul style="list-style-type: none"> • Corps d'inclusion (10 à 14 jours post-infection, puis disparaissent) <ul style="list-style-type: none"> - Dans les tissus épithéliaux (cellules épithéliales des bronchioles, de la vessie du bassinet) : intracytoplasmiques - Dans le système nerveux central (astrocytes) : intranucléaires et éosinophiles • <u>Organes lymphoïdes</u> : déplétion lymphocytaire dans le cortex des nœuds lymphatiques, le thymus et la rate • <u>Poumons</u> : pneumonie broncho-interstitielle spécifique : exsudat sereux à mucopurulent dans les bronchioles, nécrose de l'épithélium des bronchioles, infiltration des septa alvéolaires par des cellules mononucléées, œdème, fibrine, cellules mononucléées et cellules de l'épithélium nécrosées dans la lumière des alvéoles, syncitia de cellules épithéliales alvéolaires (spécifique quand présent) • <u>Système nerveux central</u> : démyélinisation de la substance blanche dans le cervelet et la moelle épinière et autour du 4ème ventricule, dégénérescence axonale, infiltration mononucléée tardive et discrète ; lésions de la substance grise plus rare (touchent le cortex)
PARVOVIROSE	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Intestin</u> (iléon et plaques de Peyer surtout) : raccourcissement des villosités, nécrose des cryptes, débris et cellules inflammatoires dans les cryptes, infiltration de la muqueuse • <u>Foie</u> : atrophie périacinaire et congestion, proéminence des cellules de Küpffer • <u>Cœur</u> : myocardite • <u>Organes lymphoïdes</u> : déplétion lymphocytaires (lyse des lymphocytes dans le cortex des nœuds lymphatiques, le thymus et la pulpe blanche de la rate) • <u>Poumons</u> : pneumonie interstitielle : épaississement des septa alvéolaires par infiltration de cellules mononucléées, congestion, œdème, exsudation de fluides et de fibrine dans la lumière des alvéoles • <u>Système nerveux central</u> : lésions induites par une vascularite
MALDIE DU VIRUS MINUTE	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Intestin</u> : architecture générale conservée, nécrose modérée des cryptes, hyperplasie des cellules épithéliales des villosités, corps d'inclusions intranucléaires basophiles au niveau des villosités intestinales du duodénum et du jéjunum • <u>Poumons</u> : parfois pneumonie interstitielle avec corps d'inclusions au niveau des bronches ou des cellules épithéliales alvéolaires • <u>Cœur</u> : myocardite, corps d'inclusions

HEPATITE DE RUBARTH	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Foie</u> : nécrose du parenchyme en région péri-acinaire, avec une délimitation marquée entre le tissu nécrosé et le tissu viable ; dans le tissu viable, présence de cellules en apoptose, activité de phagocytose des cellules de Kupffer, infiltration mononucléée avec prédominance de granulocytes neutrophiles en dégénérescence, sinusoides dilatés • <u>Organes lymphoïdes</u> : congestion • <u>Poumons</u> : hémorragies, œdème et fibrine dans les alvéoles • <u>Système nerveux central</u> : hémorragies multiples • Corps d'inclusion intranucléaires acidophiles dans les endothéliums (glomérules rénaux surtout) ou le parenchyme hépatique
MYCOPLASMOSE	Voir « septicémie »
HYPOXIE	<ul style="list-style-type: none"> • Congestion multicentrique • Infarctus, dégénérescence graisseuse

1.2.3.6. Autres techniques associées à l'histopathologie

Afin d'affiner les observations permises par la microscopie optique, des techniques plus récentes ont été développées. (BANKS, 1993)

L'*histochimie* permet de localiser et caractériser des substances chimiques qui peuvent être complexées avec un colorant ayant pour effet d'accroître leur visualisation. La plupart des constituants cellulaires peuvent ainsi être examinés : minéraux, carbohydrates, graisses, protéines, enzymes...

L'*immunohistochimie* permet d'identifier et de localiser des substances antigéniques. Un extrait purifié de la substance recherchée est injecté comme antigène (Ag) à un autre animal qui développe une réponse immunitaire et produit des anticorps (Ac), que l'on isole et purifie. On peut alors complexer un agent fluorescent, la fluorescéine isothiocyanate (FITC), aux anticorps ; puis le complexe Ac-FITC interagit avec l'échantillon s'il contient la substance recherchée Ag. Un lavage de l'échantillon permet d'éliminer l'agent en excès tout en conservant les complexes Ag-Ac-FITC, dont la présence est révélée par observation avec une source de rayonnement ultra-violet. Dans la technique par fluorescence indirecte, on ajoute une étape supplémentaire pour produire des anticorps dirigés contre les anticorps anti-substance Ag. Il en résulte un complexe Ag-Ac-Ac-FITC. Ceci a pour effet d'accroître l'intensité et la sensibilité de la réaction de fluorescence.

La *microscopie électronique à transmission* possède un pouvoir de résolution beaucoup plus important que la microscopie optique. La préparation des échantillons est la même mais des coupes d'une épaisseur de 30 à 60 nm seulement sont nécessaires pour permettre au faisceau d'électrons de traverser l'échantillon.

Deuxième Partie :

ETUDE DE L'INTERET DE L'HISTOPATHOLOGIE DANS LE CADRE DE MORTALITE NEONATALE ET PEDIATRIQUE CHEZ LE CHIEN

On trouve dans la littérature beaucoup d'informations sur la mortalité chez le chiot mais peu sur l'histopathologie comme aide au diagnostic étiologique. Elle est souvent citée mais jamais étudiée. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer l'intérêt de l'examen histopathologique dans la démarche diagnostique lors de mortalité néonatale et pédiatrique chez le chien, et en particulier de déterminer si l'origine est infectieuse ou non.

2.1. Animaux, matériel et méthodes

Des chiots issus d'élevages souffrant de mortalité néonatale ou pédiatrique ont été analysés, à la demande du propriétaire ou de son vétérinaire traitant, afin de déterminer l'origine de la mort. Des chiots de toutes races en provenance d'élevages français ont ainsi été envoyés à l'Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport de l'ENVA, accompagnés d'un recueil de commémoratifs concernant l'élevage, la portée, les symptômes observés et les éventuels traitements reçus. Pour chaque chiot, un examen nécropsique a été réalisé, et au cours de celui-ci des prélèvements d'organes en vue de leur analyse histopathologique. Les prélèvements ont été acheminés vers différents laboratoires d'analyse histopathologique, préparés et observés au microscope, à la recherche de signes pouvant confirmer une suspicion clinique ou orienter le diagnostic.

2.1.1. Individus inclus dans l'étude

L'étude s'est déroulée du 15 juin 2009 au 16 mars 2011, soit sur une période de 21 mois. Les chiots d'une même portée morts dans la même semaine de vie et envoyés conjointement pour analyse ont été comptabilisés comme un chiot unique. Ont été exclus du protocole les chiots ayant subi une congélation avant leur envoi et les chiots ayant déjà été partiellement autopsiés par le vétérinaire traitant. Les chiots ont été classés en 3 lots :

- lot 1 : chiots reçus à l'UMES entre février 2010 et mars 2011, pour lesquels des prélèvements et analyses histopathologiques ont été effectués systématiquement,
- lot 2 : dossiers antérieurs à février 2010, pour lesquels les prélèvements et analyses histopathologiques ont été effectués en fonction des lésions observées à l'autopsie,
- lot 3 : chiots en provenance d'un élevage commun, présentant un taux élevé de mortalité néonatale et pédiatrique.

2.1.2. Réalisation des autopsies

Etape 1 : réception du chiot et recueil des commémoratifs

Les cadavres ont été acheminés par colis réfrigérés et étanches, grâce à un transporteur spécialisé rapide. En attendant leur envoi (le plus rapidement possible après la mort), des consignes ont été données afin qu'ils soient conservés sous couvert du froid, à + 4°C, emballés dans du papier journal humide.

Au sein du colis, les documents papier (fiche de renseignements accompagnatrice, mode de paiement) devaient être isolés, dans une enveloppe par exemple. Lorsque plusieurs cadavres étaient envoyés dans le même colis, ceux-ci devaient être correctement identifiés (n° sur le papier-bulle, colliers de couleurs différentes...). (Photos 18 et 19)

Photo 18 : Fiche de renseignements



Photo 19 : Emballage, réfrigération et identification des chiots



Pour chaque envoi, l'éleveur et son vétérinaire traitant ont reçu une fiche de recommandations (Annexe 1) ainsi qu'un questionnaire de demande d'autopsie (Annexe 2), recensant des informations concernant entre autres :

- Le chiot à autopsier : race, sexe, âge, signes cliniques observés avant la mort et traitements entrepris,
- L'historique de la portée,
- La mère : statut vaccinal et vermifugation, tests spécifiques réalisés, signes cliniques éventuels et traitements,
- Les caractéristiques de l'élevage : mouvements d'animaux, contrôles à l'introduction, sectorisation, protocole de nettoyage/désinfection,
- Les antécédents pathologiques dans l'élevage.

La photo 20 présente les différents outils utilisés lors de la réalisation des autopsies.

Photo 20 : Préparation de la table d'autopsie

Matériel nécessaire :

- 1- un plateau
- 2- de quoi y fixer le chiot
- 3- un scalpel
- 4- des pinces (mousse et à dents de souris)
- 5- des ciseaux (à bouts ronds et pointus)
- 6- des gants, une blouse
- 7- un appareil photo
- 8- des tubes et pots à prélèvements préalablement identifiés



Etape 2 : examen externe

Une fois vérifiée la conformité de l'animal au descriptif annoncé, le chiot a été minutieusement examiné. Lors de mortalité de plusieurs chiots au sein de la même portée, ils ont été envoyés simultanément afin de comparer d'une part leur aspect externe, et d'autre part les lésions internes. (Photo 21)

Photo 21 : Comparaison des chiots d'une même fratrie entre eux



Etape 3 : incision cutanée et dépouillement

Le cadavre a été fixé au plateau en décubitus dorsal à l'aide de scotch. Le tissu cutané a alors été incisé au scalpel en contournant l'ombilic. La peau a été réclinée (Photo 22) et l'état d'hydratation apprécié au doigt (Photo 23).

Photo 22 : Chiot fixé au plateau avant et après dépouillement

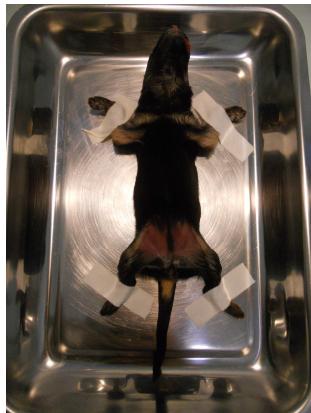


Photo 23 : Appréciation de l'état d'hydratation du chiot au doigt



Etape 4 : ouverture des cavités abdominale et thoracique, examen des organes en place

L'ouverture de la cavité abdominale a été effectuée aux ciseaux après ponction de la ligne blanche. Avant de récliner les parois, on a procédé à la récolte d'un éventuel épanchement. (Photo 24)

Photo 24 : Ouverture de la ligne blanche de la région périnéale au processus xiphoïde, recueil d'un épanchement et réclinaison des parois abdominales



La présence du vide pleural a été vérifiée par ponction du diaphragme avec la pointe du scalpel. On a alors détaché le diaphragme le long de son insertion et sectionné les côtes aux ciseaux à bouts ronds. On a enfin récolté un éventuel épanchement thoracique (Photo 25).

Photo 25 : Ponction du diaphragme, section des côtes et réclinaison du plastron costal



Etape 5 : éviscération et observation des organes isolés

Les muscles situés sur la face interne des mandibules ont été incisés, le pharynx détaché de ses attaches. La trachée et l'œsophage ont été décollés et l'ensemble des organes retirés puis séparés les uns des autres et incisés. Dans le cas particulier des poumons, un test de flottaison a été réalisé : un très petit morceau de parenchyme pulmonaire est placé dans un récipient rempli d'eau ; s'il coule, cela signe un phénomène d' « hépatisation pulmonaire » ou d'atélectasie.

Etape 6 : ouverture de la boîte crânienne

Le cadavre a été placé en décubitus ventral, la tête dépouillée au scalpel puis la boîte crânienne ouverte à l'aide de ciseaux (Photo 26) et le cerveau délogé avec une spatule.

Photo 26 : Dépouillement de la tête et ouverture de la boîte crânienne



Etape 7 : réalisation de prélèvements en vue d'examens complémentaires

Au cours de l'autopsie ont été réalisés les prélèvements adéquats pour l'analyse histopathologique et la recherche des différents agents infectieux par PCR.

Pour l'analyse histopathologique, des prélèvements d'environ 5 mm ont été réalisés, avec un scalpel et une petite pince, très minutieusement pour ne pas altérer l'architecture de l'organe. Certains organes ont été systématiquement prélevés : il s'agit de la rate, le foie, les reins, l'intestin (dans sa portion jéjuno-iléale), le cœur, les poumons et le cerveau. D'autres organes (estomac, vessie,

nœud lymphatique, thymus, peau...) ont été prélevés au cas pas cas lorsque le chiot présentait des lésions macroscopiques. Les fragments anatomiques ont été immédiatement placés dans une solution de formol à 10%, dans un pot à prélèvement préalablement étiqueté (Photo 27), en attendant leur envoi au laboratoire d'analyse histopathologique. 4 laboratoires ont contribué à l'étude : le laboratoire d'histologie de la faculté de médecine vétérinaire de l'université de Liège (Belgique), les laboratoires d'anatomie pathologique des Ecoles Nationales Vétérinaires d'Alfort et de Nantes, et le laboratoire d'anatomie pathologique vétérinaire Vet Diagnostics à Lyon.

Photo 27 : Fragments anatomiques des différents organes prélevés au cours de l'autopsie



Pour la recherche directe des agents infectieux par PCR, des prélèvements de taille inférieure ou égale à 5 mm ont été réalisés au scalpel ou aux ciseaux, et les différents morceaux placés ensemble dans un tube à essai préalablement identifié, à raison d'un tube à essai par agent infectieux. Les organes prélevés étaient les suivants (Annexe 3) :

- Pour la recherche de l'herpès virus : foie, rein et poumon,
- Pour la recherche du virus minute : intestin, cœur et poumon,
- Pour la recherche des mycoplasmes : foie, poumon et cerveau.

Pour le cas du parvovirus et du coronavirus entérique, un écouvillon rectal a été réalisé et conservé dans un tube à essai identifié.

Les tubes ont été réunis dans un même pot et conservés au froid négatif. Les analyses PCR ont été menées par le laboratoire de virologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

2.1.3. Préparation des lames histologiques

Les prélèvements ont été placés dans un volume de **fixateur** équivalent à 15 à 20 fois le volume de la pièce : du formol 10% tamponné par un tampon phosphate à pH 7,2. Les prélèvements ont été laissés en place dans le liquide fixateur au minimum pendant 48 heures afin de permettre une bonne imprégnation.

Les pièces ont ensuite été placées dans des cassettes correctement identifiées avant de passer à l'étape de **circulation** (ou inclusion). La paraffine (fournie par la société *Klinipath*) a été notre milieu d'inclusion et d'enrobage. Dans un premier temps (**déshydratation**), les prélèvements ont été plongés dans des bains successifs d'agent déshydratant, le 2-propanol, en concentration croissante. Le 2-propanol, non miscible avec la paraffine, a ensuite été remplacé par un liquide miscible avec la paraffine (**éclaircissement**). Nous avons utilisé comme agent éclaircissant l'Ultra Clear Histograde® (firme *J.T. Backer*), un liquide à base d'isoparaffine ne contenant qu'une faible quantité de xylène, d'où une moindre toxicité et volatilité. Enfin (**imprégnation**), l'agent éclaircissant a été éliminé et remplacé par de la paraffine, à une température de 60°C (proche du point de fusion de la paraffine). L'ensemble de la circulation a été réalisée à l'aide d'un automate, le Tissu-Tek® VIP (firme : *Sakura-Bayer diagnostic*), un circulateur à bain unique. C'est-à-dire que les pièces ont été placées dans une

seule cuve dans laquelle se sont succédés les différents réactifs à l'aide d'un système de pompes et de valves, évitant ainsi le déplacement des objets ainsi que leur contact avec l'air ambiant, l'émanation de vapeurs toxiques, et permettant un traitement de jour comme de nuit, ainsi qu'une agitation continue accélérant le processus de pénétration.

Tableau 9 : Les différents bains du Tissue-Tek® VIP

Etape	Bain	Concentration (%)	Temps (min)	Température (°C)
Fixation	Formol tamponné neutre	10	60	35
Déshydratation	2-propanol	70	60	35
		90	60	35
		100	60	35
		100	60	35
		100	60	35
Eclaircissement	<i>Ultra Clear</i> <i>Histograme®</i>	100	60	35
		100	60	37
		100	60	40
Imprégnation	Paraffine	pure	60	58
			60	58
			60	58
			60	58

Pour la réalisation des blocs (**enrobage**), les objets ont été retirés des cassettes et déposés à l'aide d'une pince dans des moules métalliques (Tissue-Tek®) préalablement chauffés, et le tout recouvert de paraffine liquide. Les moules ont ensuite été placés sur une plaque réfrigérante à -4°C afin d'obtenir un durcissement de la paraffine. Une fois la paraffine solide (au bout de 15 minutes environ), les blocs ont été démoulés. Pour l'enrobage, nous avons utilisé l'appareil Tissue-Tek® TEC (firme *Sakura-Bayer diagnostics*). (Photo 28)

Photo 28 : Appareil d'enrobage



Pour une meilleure réalisation des coupes, les blocs ont été placés sur une plaque réfrigérante *HistoBlock* (firme Jung Leica) à une température de – 15°C. Les coupes ont ensuite été réalisées à l'aide d'un microtome rotatif, *Reichert-jung 2035* (firme Biocut), d'une épaisseur de 4µm. (Photo 29)

Photo 29 : Refroidissement des blocs et section au microtome



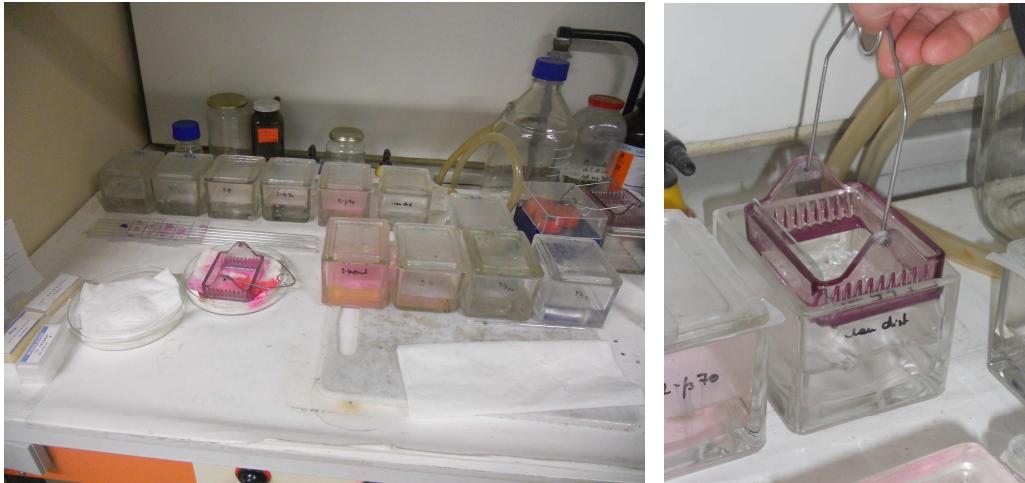
Une fois les coupes réalisées, elles ont été placées dans un bain d'eau chaude à une température de 48°C environ afin d'en faciliter l'étalement, puis récupérées sur des lames Superfrost® plus (firme Menzel-Glaser) de dimensions 25 x 75 x 1 mm. L'excès d'eau a été éliminé en inclinant les lames sur du papier absorbant. Les lames ont d'abord séché à température ambiante avant d'être placées dans une étuve à 37°C pendant un minimum de 12 heures.

Les coupes ainsi obtenues ont été colorées à l'Hématoxyline éosine (Photo 30) selon le protocole présenté dans le tableau 10 puis montées entre lame et lamelle (milieu de montage Néotentellan) avant d'être observées au microscope.

Tableau 10 : Protocole de coloration à l'hématoxyline éosine

Bain	Intérêt	Temps (min)
Xylène	Déparaffinage	2
Xylène	Déparaffinage	2
2-propanol absolu	Hydratation	2
2-propanol 90%	Hydratation	2
2-propanol 70%	Hydratation	2
Eau distillée	Hydratation	2
Eau distillée	Hydratation	2
Hématoxyline de Mayer	Coloration nucléaire	10
Eau courante	Rinçage	2
Eau distillée	Rinçage	2
Eau de Scott	Bleuissement	2
Eau distillée	Rinçage	2
2-propanol 80%	Déshydratation	2
Eosine phloxine	Coloration cytoplasmique	1
2-propanol absolu	Rinçage et déshydratation	2
2-propanol absolu	Rinçage et déshydratation	2
2-propanol absolu	Rinçage et déshydratation	2
2-propanol absolu	Rinçage et déshydratation	2
Xylène	Eclaircissement	2
Xylène	Eclaircissement	2

Photo 30 : Coloration des lames à l'Hématoxyline éosine



Pour chaque chiot, tout au long de l'étude, est rempli un document comprenant le rapport d'autopsie (ensemble des lésions macroscopiques notables), les différents examens complémentaires réalisés ainsi que leurs résultats, et la conclusion des investigations accompagnée si possible de conseils remis à l'éleveur. (Annexe 4)

2.2. Résultats

Un tableau bilan recensant la totalité des informations concernant les chiots inclus dans l'étude (commémoratifs, observations macroscopiques, résultats d'analyses et conclusion) est présenté en annexes 5 (lots 1 et 2) et 6 (lot 3).

2.2.1. La population étudiée

46 chiots, de 24 races différentes et en provenance de 26 élevages, ont été inclus dans l'étude. L'annexe 7 présente les différentes races de chiots inclus dans l'étude.

Le tableau 11 présente la population de chiots étudiée par tranche d'âge : 23 chiots (50%) appartenaient à la période néo-natale (0-15 jours), et 23 (50%) à la période pédiatrique (15-73 jours).

Tableau 11 : Population étudiée et tranche d'âge

	LOT 1 = chiots reçus pendant la période d'étude, envoyés systématiquement en analyse histopathologique	LOT 2 = chiots antérieurs à la période d'étude, envoyés en analyse histopathologique selon les lésions observées à l'autopsie	LOT 3 = chiots en provenance du même élevage
Période néonatale (0-15 jours)	12	7	4
Période pédiatrique (15-75 jours)	7	5	11

2.2.2. Les lésions macroscopiques observées à l'autopsie

Dans de nombreux cas, l'examen nécropsique en lui-même a révélé des lésions macroscopiques, responsables ou non du décès du chiot.

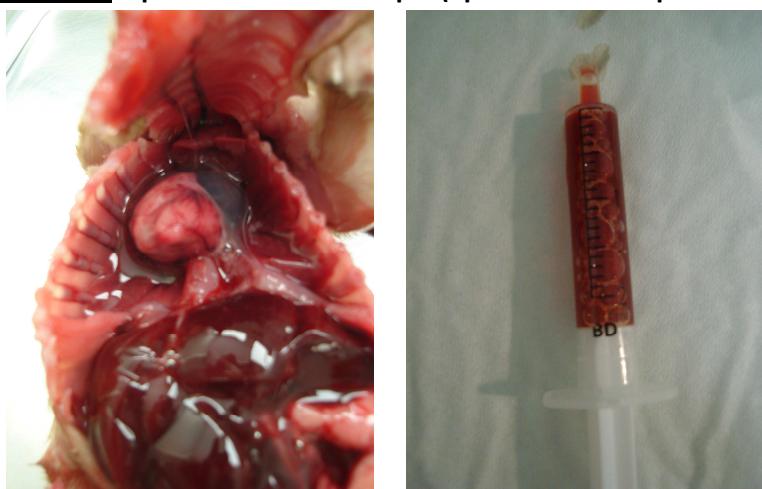
Lors de l'examen externe, 43% des chiots (20/46) présentaient des signes d'atteinte digestive, respiratoire ou autre. Les anomalies les plus fréquemment retrouvées étaient des signes de diarrhée (région périnéale souillée, figure 32-A) (9/20), du lait autour de la truffe ou dans la cavité buccale (figure 32-B) (6/20), un écoulement séreux bilatéral à la pression des narines (3/20). Plus rarement ont été observés du pus en regard de l'œil, une hyperpigmentation des coussinets, une nécrose de l'extrémité de la langue (figure 32-C), la déviation d'un membre, un ictère, un érythème cutané (1 chiot chacun). La photo 31 présente quelques unes de ces observations externes.

Photo 31 : Diarrhée (A), lait autour des cavités nasales (B), nécrose de l'extrémité de la langue (C) et fente palatine (D) chez des chiots de 0 à 4 jours



A l'ouverture des cavités abdominale et thoracique, 6 chiots (13%) présentaient un liquide d'épanchement : 4 épanchements abdominaux et 2 épanchements thoraciques. (Photo 32)

Photo 32 : Epanchement thoracique (après retrait des poumons)



A l'examen des organes abdominaux, 29 chiots (63%) présentaient au moins 1 altération du tube digestif ou de ses annexes.

Une dilatation stomachale par une grande quantité de lait a été retrouvée chez 6 chiots (les mêmes 6 chiots ayant présenté des traces de lait autour de la truffe ou dans la cavité buccale lors de l'examen externe), avec présence de lait dans l'œsophage également. 2 chiots présentaient des pétéchies sous la séreuse stomachale (Photo 33). Dans ces 2 cas, des pétéchies ont été retrouvées sur les reins, et dans un cas sur le pancréas. Les intestins ont montré une congestion pour 5 chiots (Photo 35), et une dilatation aérique pour 2 autres chiots (Photo 34). Une perforation intestinale a été observée chez 2 chiots (1 perforation duodénale et 1 perforation jéjunale) avec contenu digestif répandu dans la cavité abdominale et une hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques chez 1 chiot (Photo 36).

Photo 33 : Pétéchies sous la séreuse stomachale

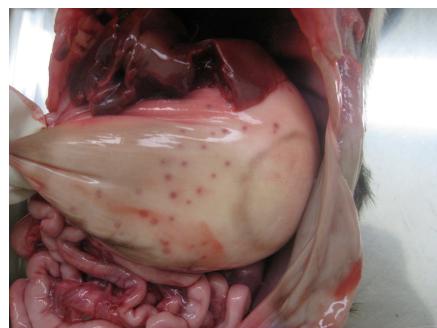


Photo 34 : Dilatation aérique des anses intestinales



Photo 35 : Congestion intestinale

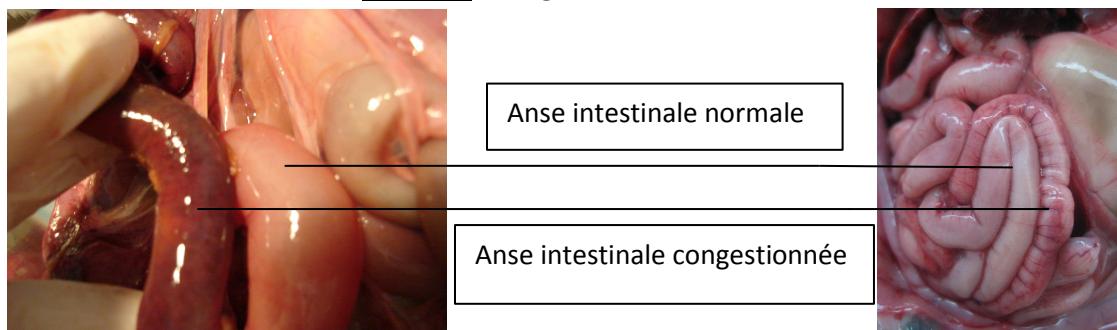
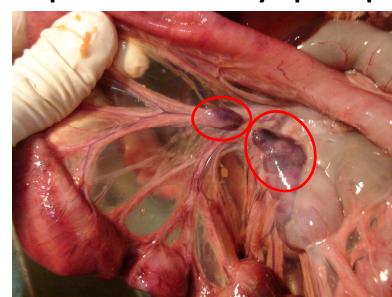


Photo 36 : Hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques



20 chiots (43%) présentaient des anomalies de taille, de couleur ou de consistance du foie. 12 chiots présentaient une décoloration hépatique généralisée ou par marbrures (Photo 37), avec ou sans modification de la consistance (friabilité), et 3 chiots des plages sombres d'hémorragies ou infarcissement. 2 chiots présentaient une congestion hépatique associée à une hépatomégalie, 1 chiot des lésions blanchâtres multifocales sur le foie, 1 chiot un aspect de foie en lipidose (volumineux, friable, tranche de section jaunâtre). Enfin, un liseré jaune a été observé au bord caudal du foie chez 5 chiots âgés de 0 à 7 jours (Photo 38).

Photo 37 : Décoloration du foie par marbrures

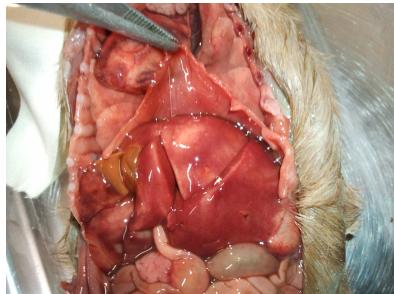
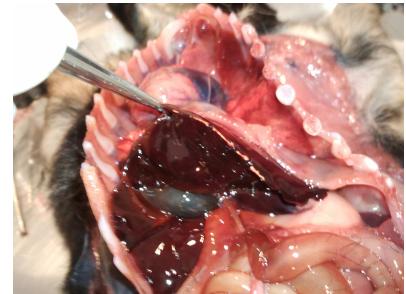
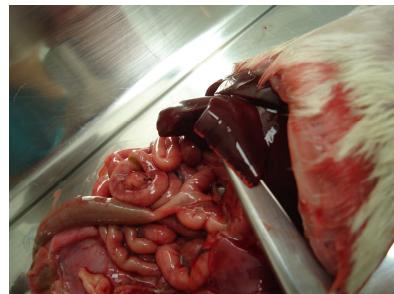


Photo 38 : Liséré jaune au bord caudal du foie



15 chiots (33%) présentaient des lésions rénales, externes ou à la coupe. D'aspect extérieur, les reins lésés présentaient des anomalies de taille, forme, consistance et couleur. Ainsi, 5 chiots ont présenté des reins de taille et forme inégale, avec l'un des deux reins de taille augmentée et boursouflé. 1 chiot présentait des reins mous, et un autre des reins petits et indurés. Une décoloration généralisée ou par plages a été observée chez 9 chiots, et des pétéchies chez 4 chiots (Photo 39). Chez ces 4 derniers chiots, des pétéchies sur l'estomac ont été observées pour 2 individus ; les 2 autres ne présentaient pas de pétéchies sur d'autres organes que les reins. 2 chiots présentaient un décollement de la capsule focalement. Enfin, chez un chiot, l'absence complète d'un des deux reins a été notée. L'examen des reins en coupe longitudinale a montré une distinction de la jonction cortico-médullaire difficile dans 2 cas (Photo 40), et un parenchyme rénal très sombre dans 2 cas également.

Photo 39 : Décoloration et pétéchies rénales

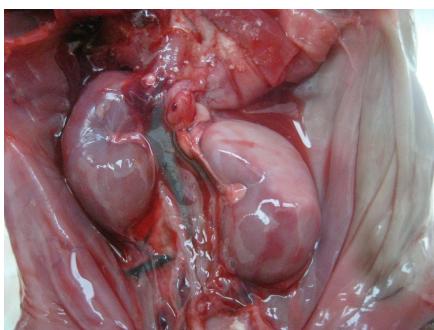
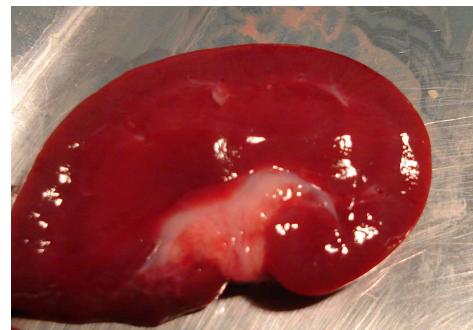


Photo 40 : Mauvaise distinction cortico-médullaire à la coupe longitudinale



33 chiots (72%) présentaient des lésions de l'appareil respiratoire. 24 chiots ont montré une congestion pulmonaire (Photo 41), focale ou généralisée, dont 9 avec un test de flottaison positif

(coule). Une décoloration a été observée dans 3 cas dont une « en damier ». La présence d'un emphysème, se traduisant par des crépitements sous les doigts, a été notée chez 9 chiots, une atélectasie partielle ou totale chez 3 chiots. Du liquide suintait à la coupe chez 6 chiots : pour 3 chiots, il s'agissait d'un liquide séreux (œdème), pour 2 chiots un liquide hémorragique (Photo 42), et pour 1 chiot enfin du lait. Du lait a été retrouvé dans la trachée de 3 chiots, chez lesquels du lait avait également été retrouvé dans la cavité buccale et autour de la truffe, et en grande quantité dans l'estomac.

Photo 41 : Congestion pulmonaire

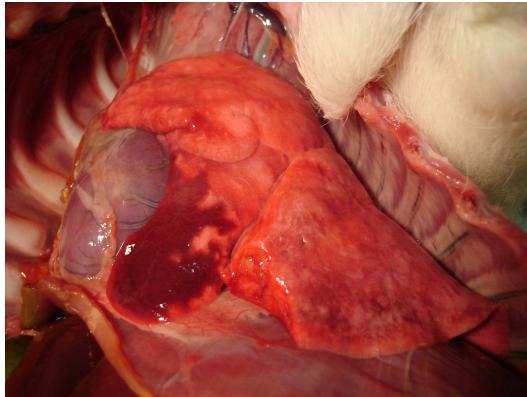


Photo 42 : Liquide hémorragique à la coupe

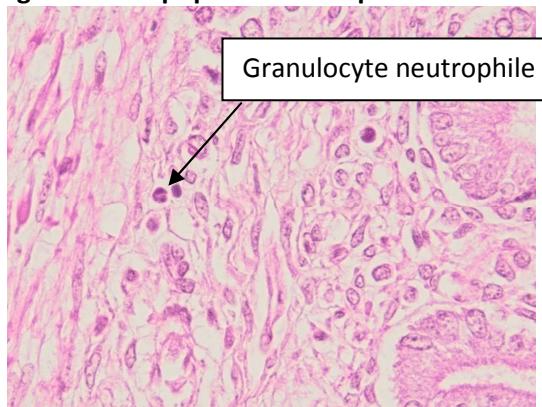


2.2.3. Les lésions histopathologiques rencontrées

2.2.3.1. Les lésions de l'appareil digestif

Parmi les 41 chiots pour lesquels l'intestin a été prélevé et analysé, 32 (78%) présentaient des lésions de l'intestin. Des images d'entérite ont été observées chez 15 chiots (Photos 43, 44 et 45), des anomalies des cryptes et/ou des villosités seules chez 12 chiots (Photo 46). 8 des prélèvements montraient une histolyse marquée (Photo 47). 2 chiots présentaient une congestion intestinale (Photo 48) et 2 autres un tube digestif immature. Enfin, des bactéries ont été observées sur 3 prélèvements, et des éléments évocateurs du genre *Candida* sur 1 prélèvement.

Photo 43 : Image microscopique d'une coupe d'intestin : entérite aiguë



G : x 400

Photo 44 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : entérite subaiguë

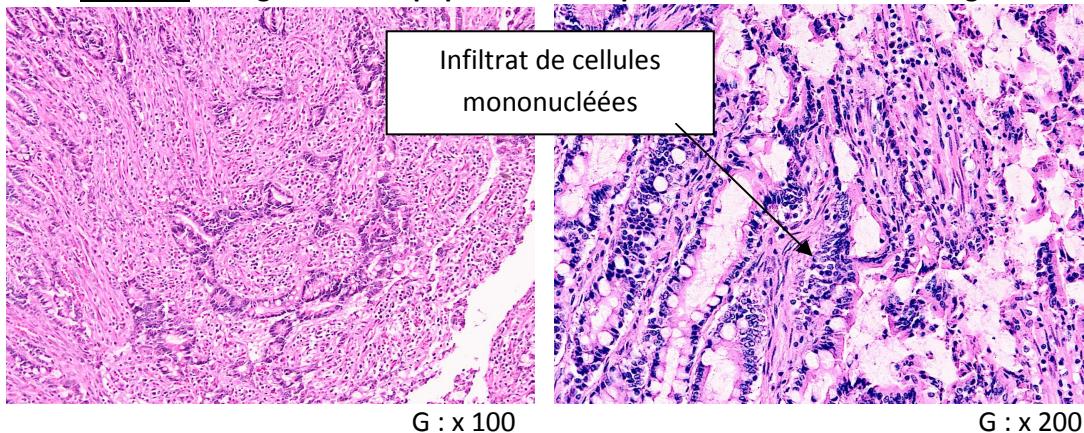


Photo 45 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : entérite chronique

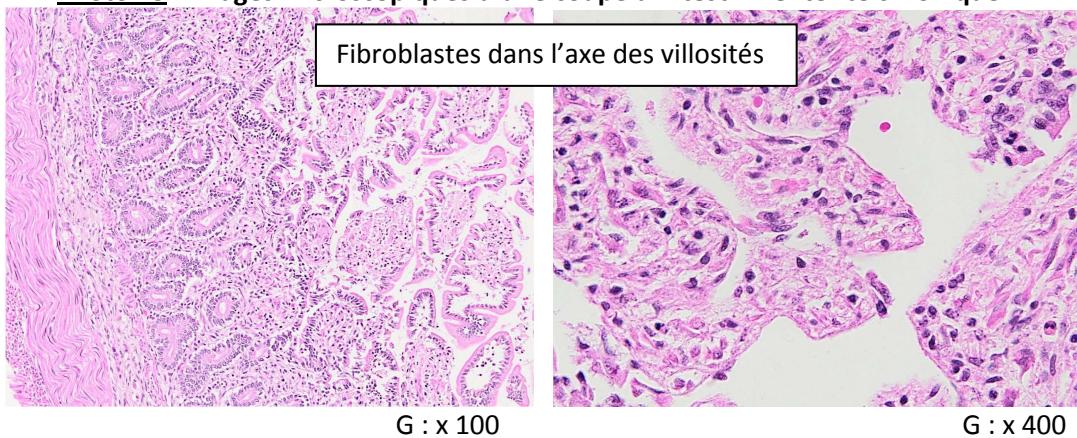


Photo 46 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : débris nécrotiques à l'intérieur des cryptes

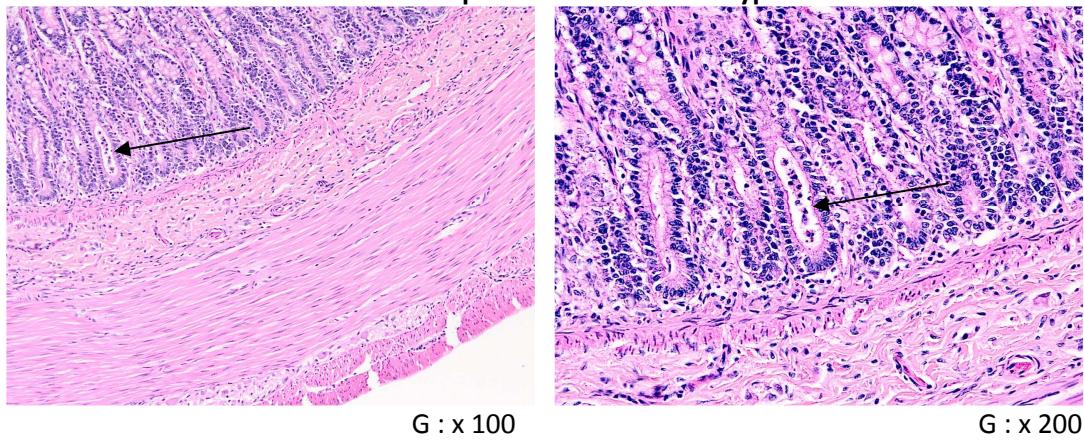
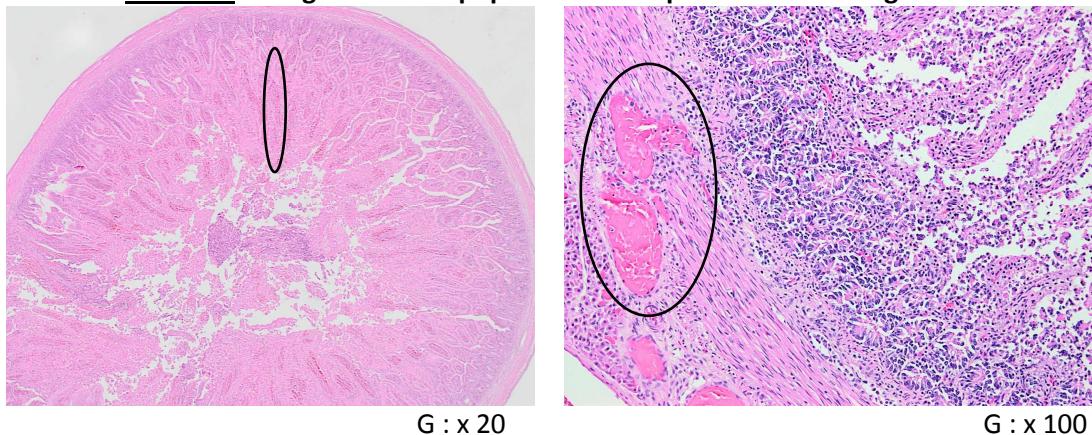


Photo 47 : Image microscopique d'une coupe d'intestin : histolyse complète



G : x 20

Photo 48 : Images microscopiques d'une coupe d'intestin : congestion



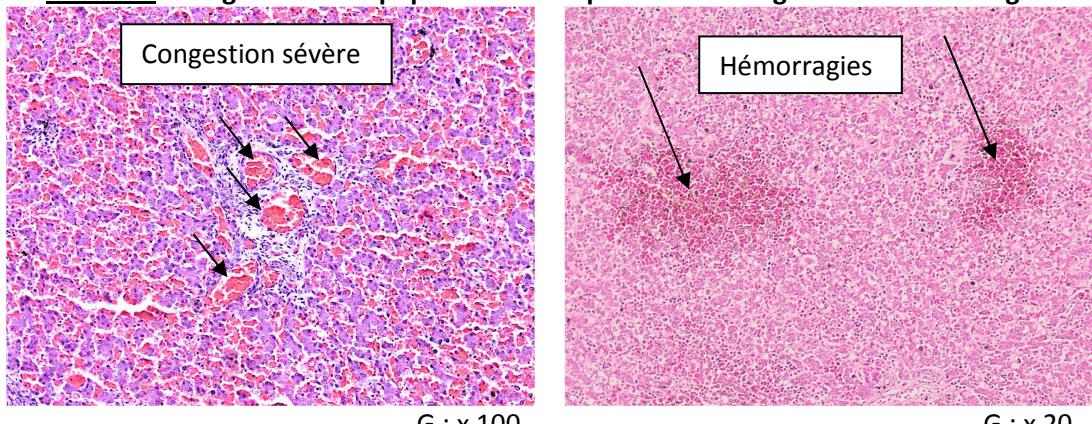
G : x 20

G : x 100

2.2.3.2. Les lésions des glandes annexes

Parmi les 44 chiots pour lesquels le foie a été prélevé et analysé, 33 (75%) ont montré des lésions histopathologiques. Des lésions de type congestion et/ou hémorragies ont été observées chez 20 chiots (Photo 49), des infiltrats inflammatoires chez 17 chiots (Photo 50). Des images de stéatose ont été observées chez 8 chiots (Photo 51), des foyers d'hématopoïèse chez 7 chiots (Photo 52). 3 prélèvements montraient des signes de dégénérescence (Photo 53), 3 d'histolyse. Une surcharge en pigments biliaires a été observée sur 2 prélèvements (Photo 54), et une surcharge glycogénolipidique sur 1 autre prélèvement. Enfin, des bactéries ont été observées sur 3 prélèvements.

Photo 49 : Images microscopiques d'une coupe de foie : congestion et hémorragies



G : x 100

G : x 20

Photo 50 : Images microscopiques d'une coupe de foie : infiltrat inflammatoire parenchymateux et périvasculaire

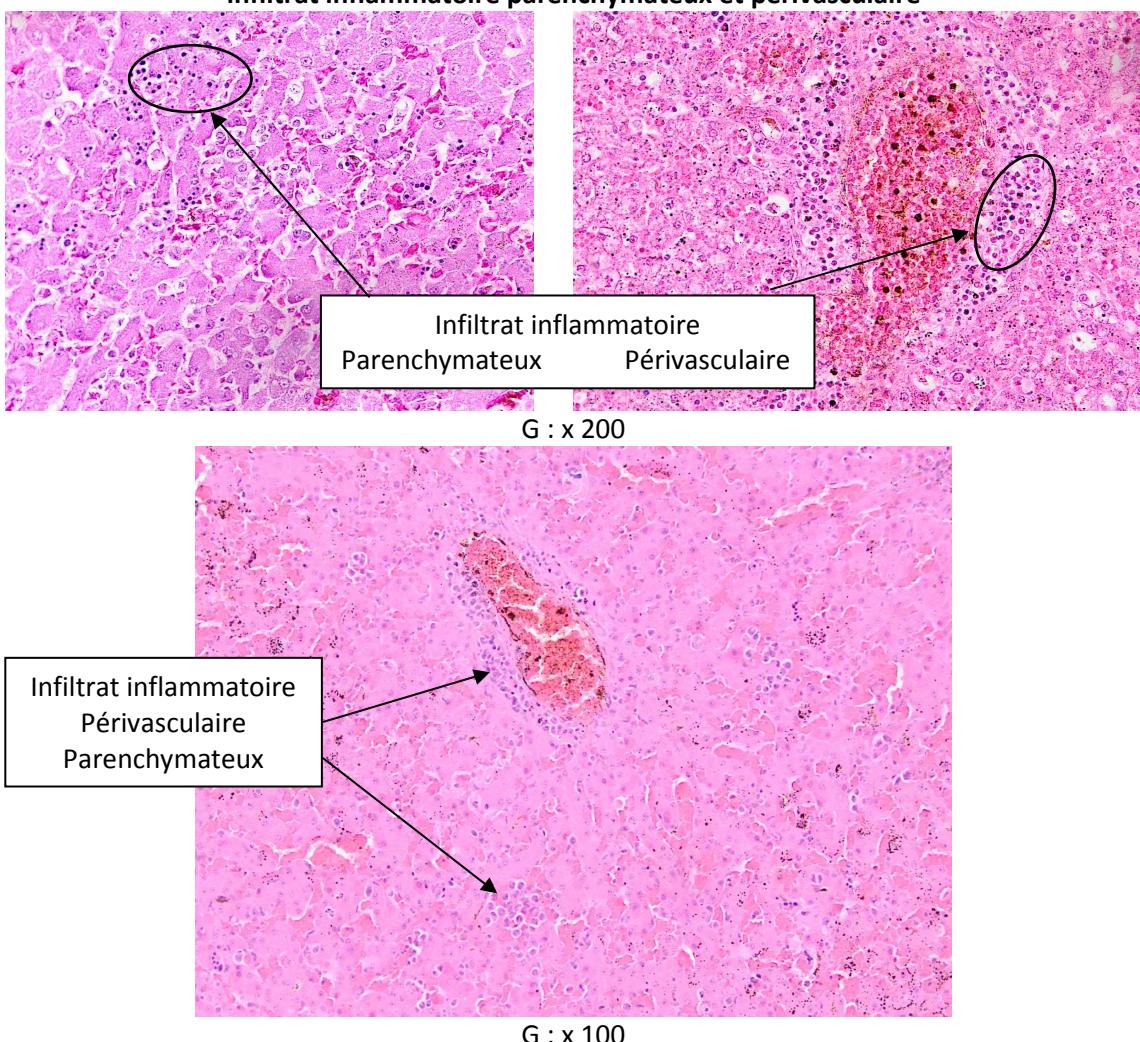


Photo 51 : Image microscopique d'une coupe de foie : stéatose

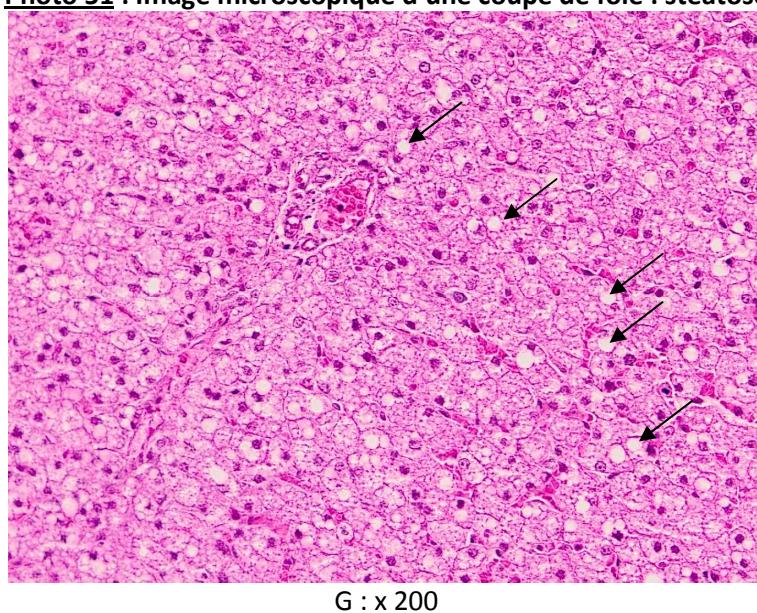
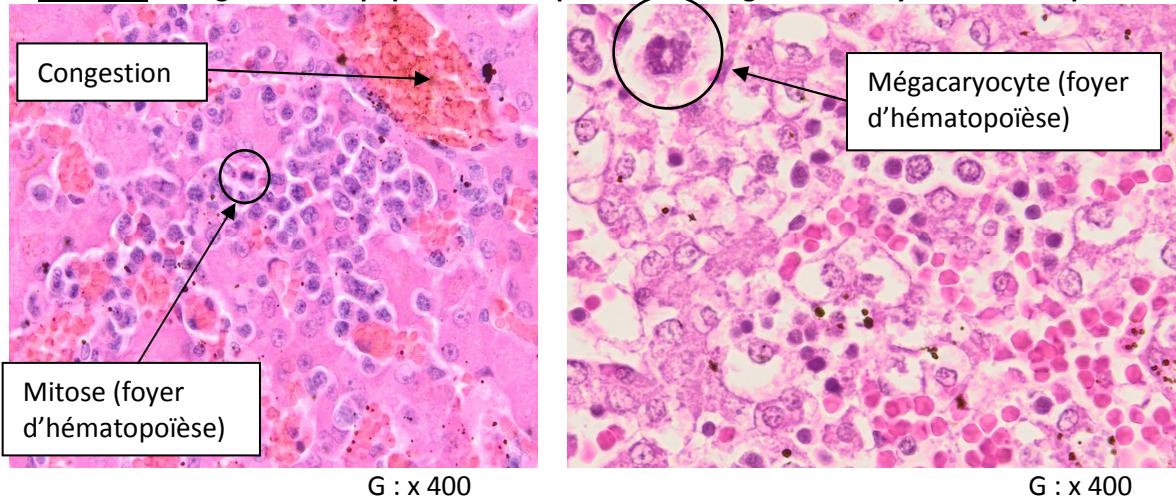


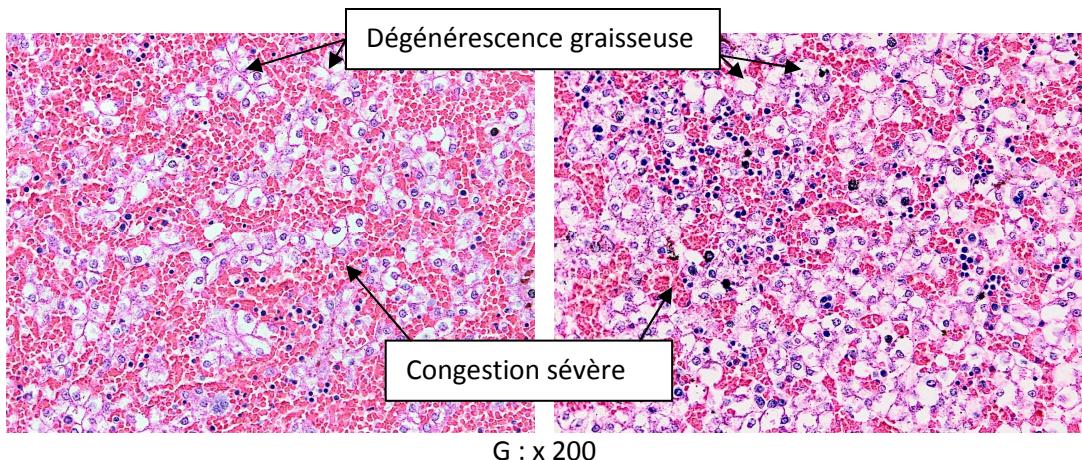
Photo 52 : Image microscopique d'une coupe de foie : congestion et foyers d'hématopoïèse



G : x 400

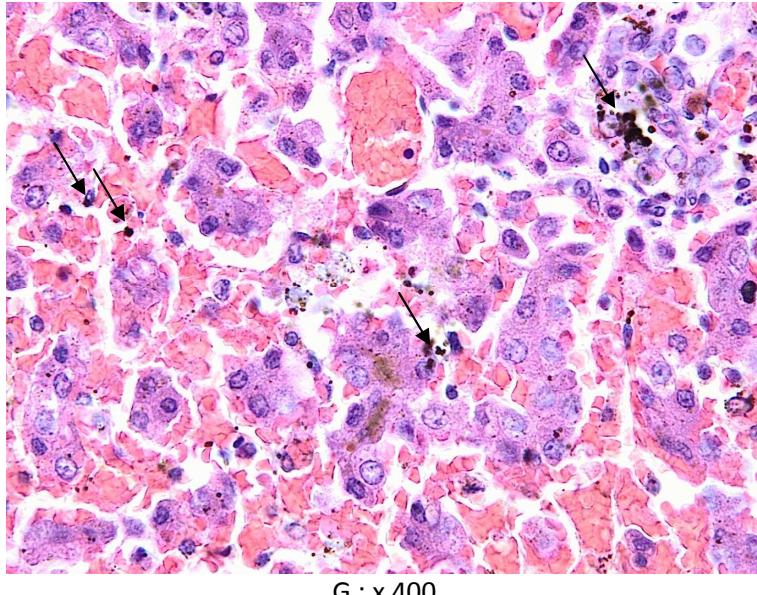
G : x 400

Photo 53 : Image microscopique d'une coupe de foie : hépatocytes en dégénérescence



G : x 200

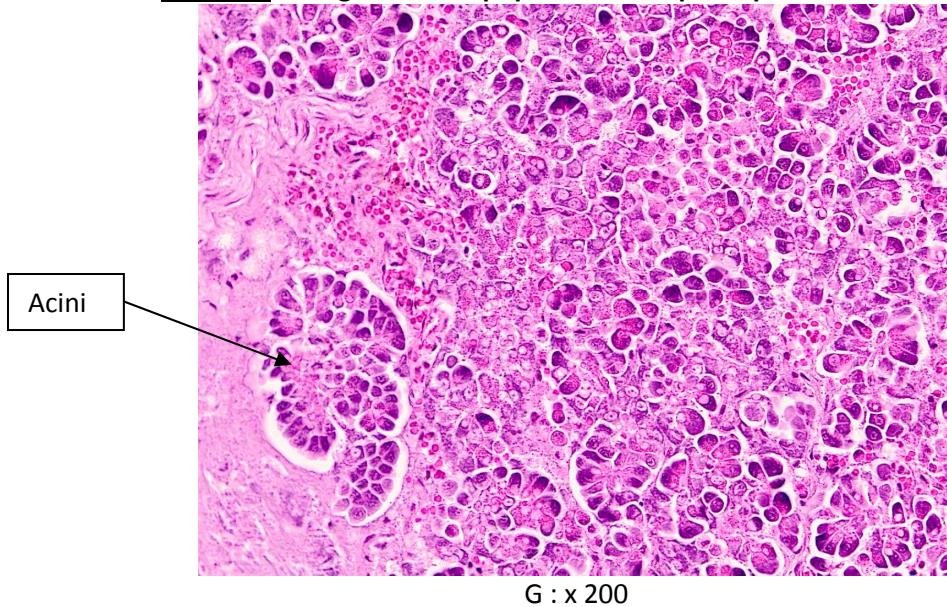
Photo 54 : Image microscopique d'une coupe de foie : pigments intrahépatiques



G : x 400

Parmi les 4 chiots pour lesquels le pancréas a été prélevé et analysé, 2 ont montré des lésions histopathologiques. Il s'agissait pour l'un d'une déplétion sévère en grains de zymogène, et pour l'autre de la présence d'amas de coques dans les capillaires sanguins, associée à une exsudation fibrineuse et de petites hémorragies, avec histolyse (on observe des cellules non jointives, présentant une grande variation de formes et de couleurs). (Photo 55)

Photo 55 : Image microscopique d'une coupe de pancréas : histolyse



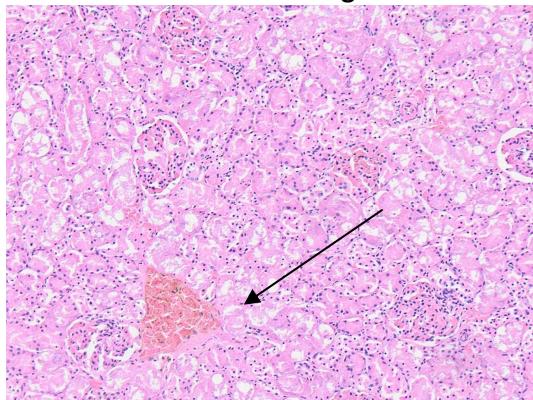
G : x 200

2.2.3.3. Les lésions de l'appareil urinaire

Parmi les 41 chiots pour lesquels le rein a été prélevé et analysé, 15 (37%) ont montré des lésions histopathologiques. Des lésions de type congestion et/ou hémorragies ont été observées chez 11 chiots (Photo 56). 1 prélèvement a présenté un infiltrat inflammatoire, 1 prélèvement des pétéchies (Photo 57), 1 prélèvement des thrombus vasculaires, 1 prélèvement des signes d'histolyse. Enfin, des bactéries ont été observées sur 3 prélèvements.

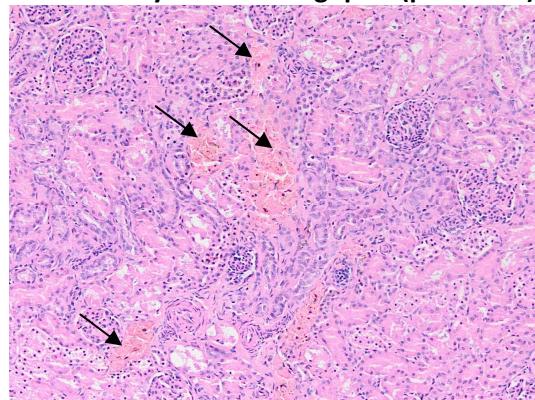
Des glomérules fœtaux (dont la présence est physiologique au stade néonatal) ont été observés chez 11 chiots.

Photo 56 : Image microscopique d'une coupe de rein : congestion



G : x 100

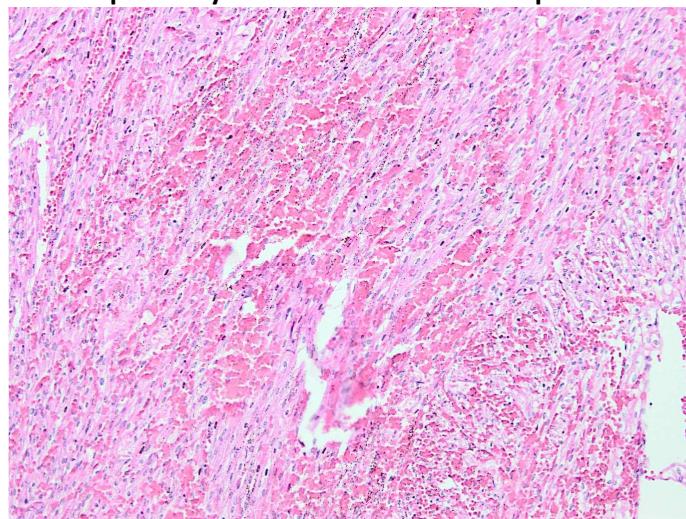
Photo 57 : Image microscopique d'une coupe de rein : foyers hémorragiques (pétéchies)



2.2.3.4. Les lésions de l'appareil circulatoire

Parmi les 36 chiots pour lesquels le cœur a été prélevé et analysé, 9 (25%) ont montré des lésions histopathologiques. Pour 6 d'entre eux, il s'agissait de lésions de type congestion et/ou hémorragie avec pour 1 chiot la présence de pétéchies (Photo 58). Des bactéries ont été observées sur 2 prélèvements. Enfin, une malformation congénitale de type cardiomégalie a été observée.

Photo 58 : Image microscopique d'une coupe de myocarde : congestion, hémorragies intraparenchymateuses multifocales et pétéchies

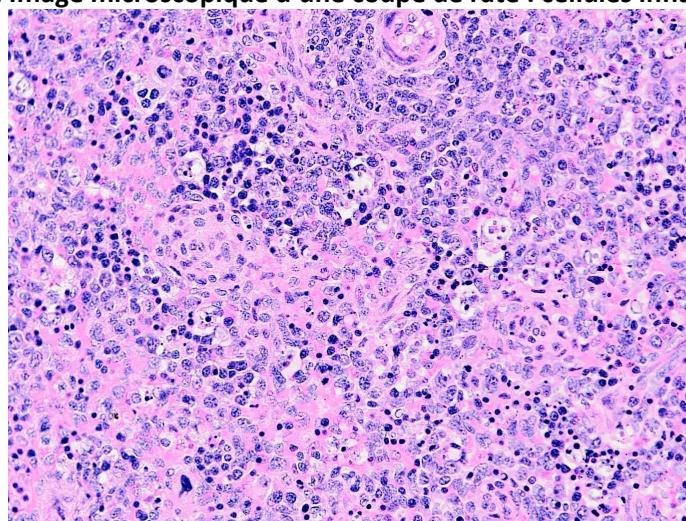


G : x 100

2.2.3.5. Les lésions des organes hémato-lymphopoïétique

Parmi les 14 chiots pour lesquels la rate a été prélevée et analysée, 7 ont montré des lésions histopathologiques. Des foyers de nécrose lymphoïde ont été observés sur 3 prélèvements, des foyers d'hématopoïèse sur 2 prélèvements. Enfin, des bactéries ont été observées sur 2 prélèvements, associées à des infiltrats inflammatoires (Photo 59).

Photo 59 : Image microscopique d'une coupe de rate : cellules inflammatoires



G : x 200

Parmi les 10 chiots pour lesquels le thymus a été prélevé et analysé, 3 (30%) ont montré des lésions histopathologiques. Il s'agissait de lésions de type congestion et/ou hémorragies (Photo 60), associées pour 2 chiots à une septicémie, et pour le troisième (hémorragies seules) à une hypoxie (il s'agissait d'un chiot né par césarienne). Pour 3 autres chiots, des corpuscules de Hassal, dont la présence n'est pas pathologique, ont été observés (Photo 61).

**Photo 60 : Images microscopiques d'une coupe de thymus :
congestion, hémorragies et déplétion cellulaire**

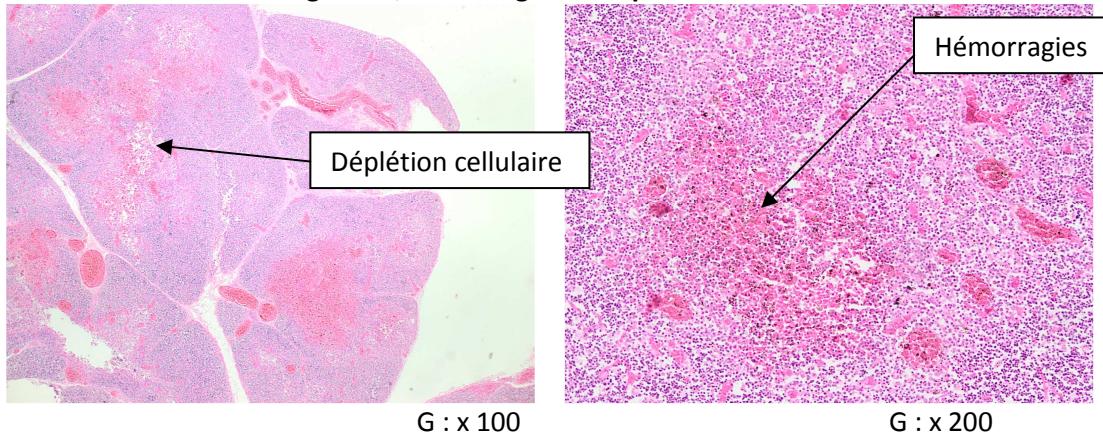
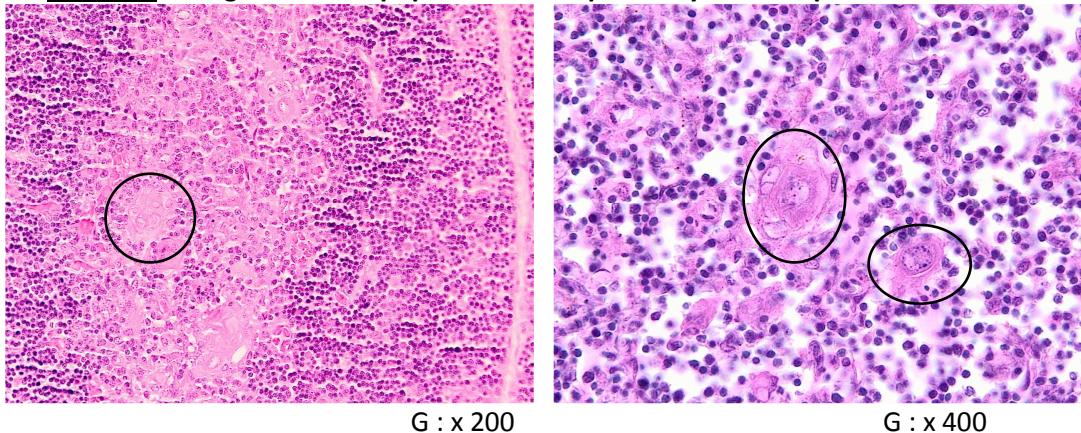
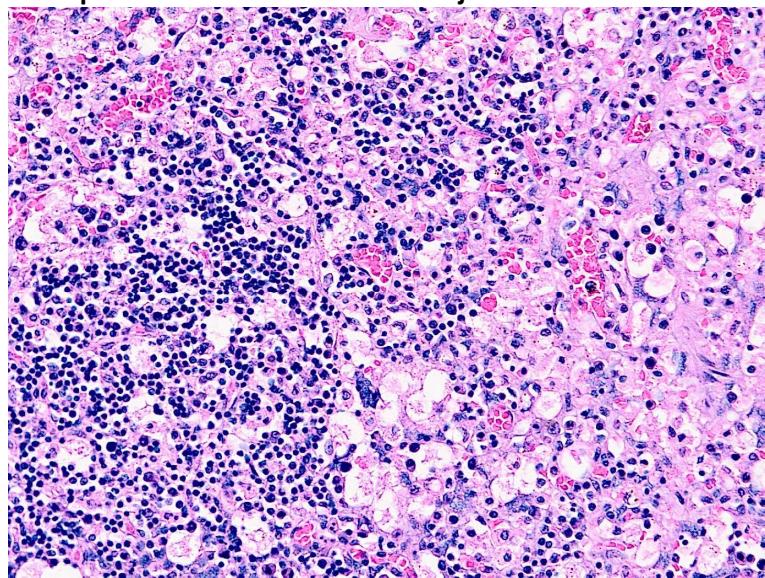


Photo 61 : Images microscopiques d'une coupe de thymus : corpuscules de Hassal



1 prélèvement de nœud lymphatique mésentérique a été réalisé, chez un chiot de 56 jours ayant présenté des troubles digestifs de type diarrhée et vomissements, et dont l'autopsie a montré un intestin sévèrement congestionné avec un contenu liquide et hémorragique. L'analyse histopathologique du thymus a montré une importante déplétion cellulaire, avec des trames conjonctives bien visibles (Photo 62). La suspicion de parvovirose soulevée par la clinique ainsi que l'autopsie et l'histopathologie a été confirmée par une PCR positive sur écouvillon rectal et sur les organes internes.

Photo 62 : Image microscopique d'une coupe de nœud lymphatique mésentérique : déplétion cellulaire et trames conjonctives bien visibles



G : x 200

2.2.3.6. Les lésions de l'appareil respiratoire

Parmi les 44 chiots pour lesquels le poumon a été prélevé et analysé, 25 (57%) ont montré des lésions histopathologiques. Pour 22 d'entre eux, une pneumonie ou bronchopneumonie a été mise en évidence (Photos 63 à 67), dont 8 associées à une parvovirose. Des lésions de type congestion et/ou hémorragies ont été observées chez 17 chiots (Photo 68). 8 chiots présentaient un œdème pulmonaire (Photos 69 et 70), 7 chiots une atélectasie partielle ou totale (Photo 71), 3 chiots un emphysème (Photo 72). Enfin, des bactéries ont été observées sur 6 prélèvements (Photos 73 et 74).

Photo 63 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : bronchopneumonie débutante suppurée

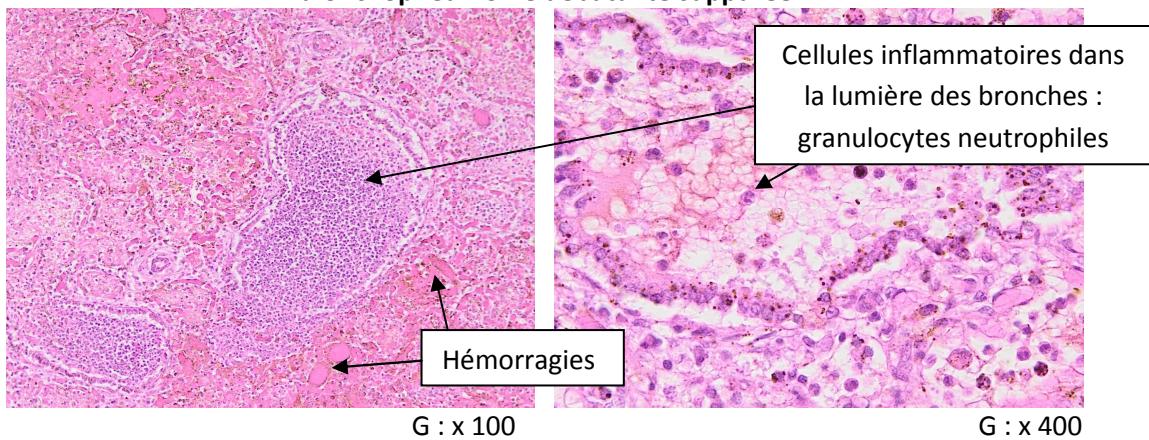


Photo 64 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : bronchite subaiguë

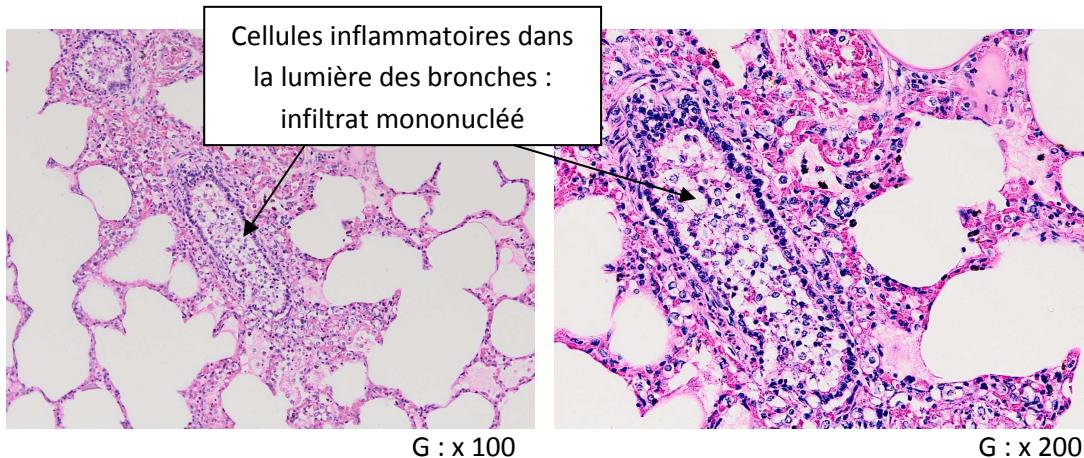


Photo 65 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : pneumonie alvéolaire aiguë et chronique

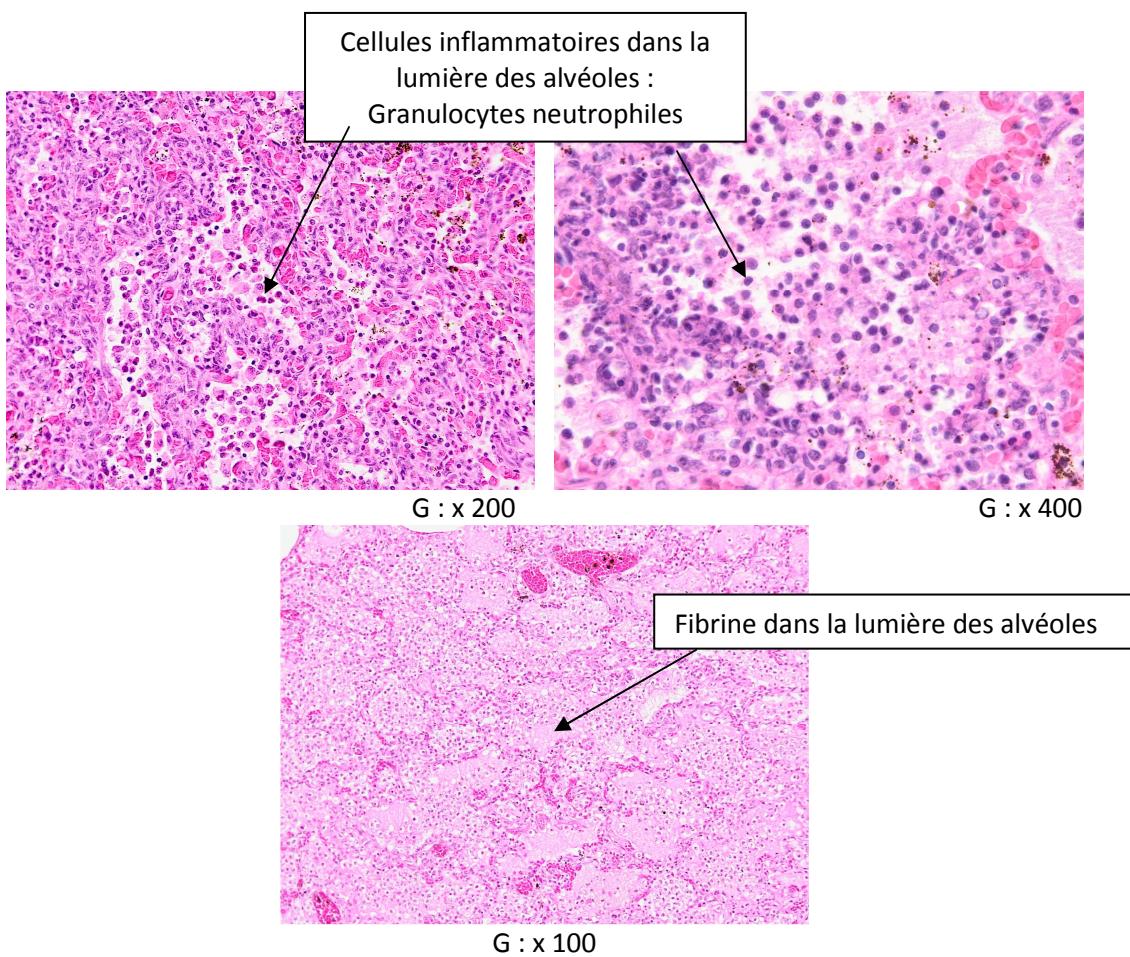
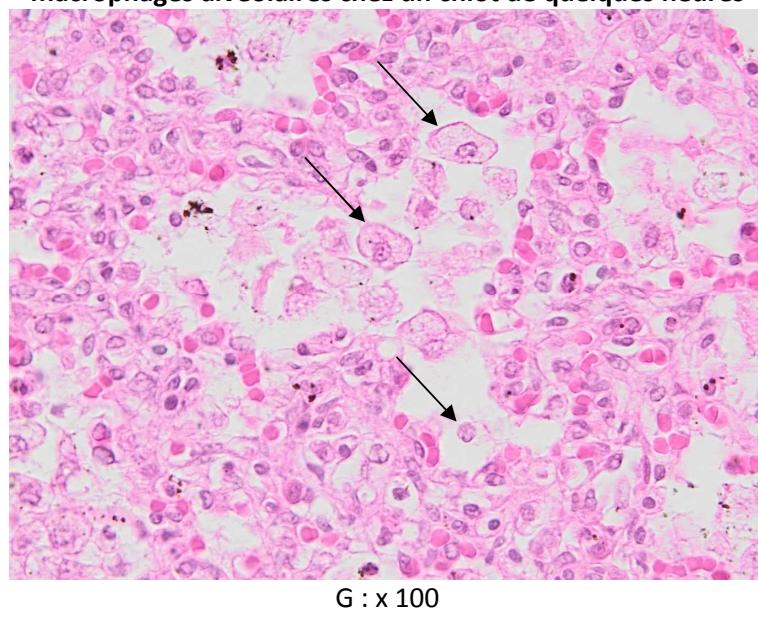


Photo 66 : Image microscopique d'une coupe de poumon : présence non pathologique de macrophages alvéolaires chez un chiot de quelques heures



G : x 100

Photo 67 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : pneumonie interstitielle subaiguë

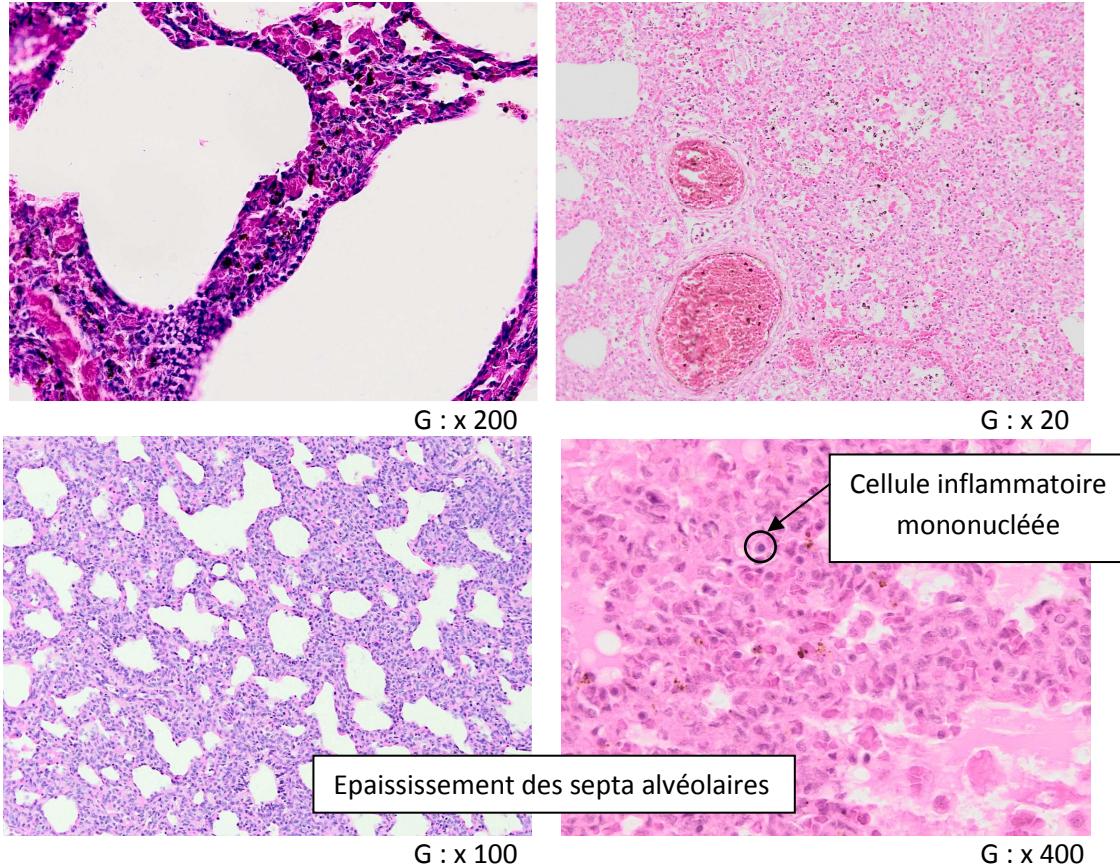


Photo 68 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : congestion et hémorragies

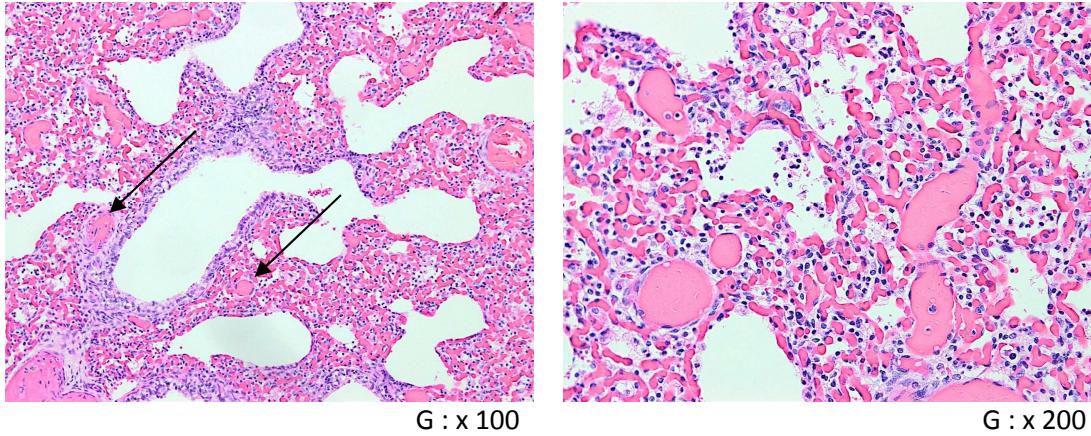


Photo 69 : Image microscopique d'une coupe de poumon : œdème périvasculaire

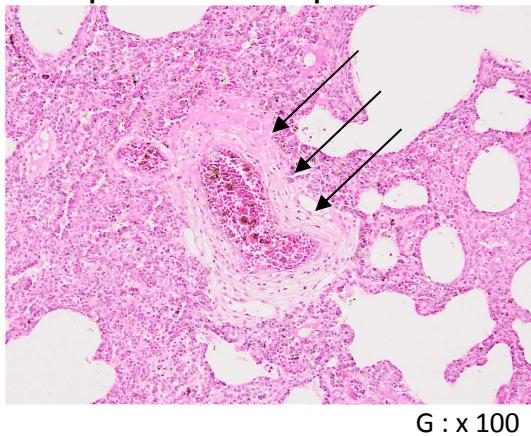


Photo 70 : Image microscopique d'une coupe de poumon : œdème alvéolaire

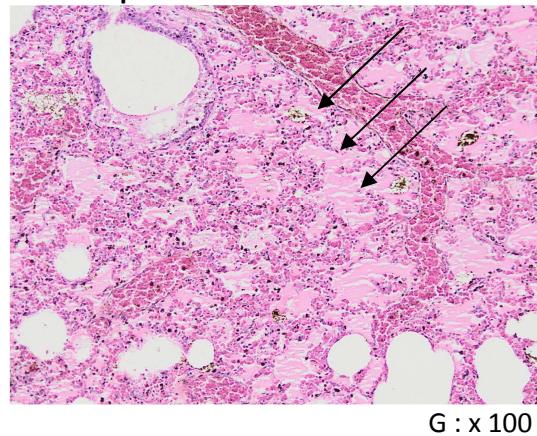


Photo 71 : Image microscopique d'une coupe de poumon : atélectasie partielle

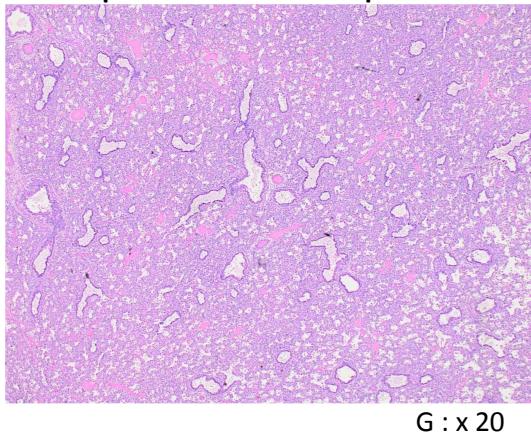


Photo 72 : Image microscopique d'une coupe de poumon : emphysème

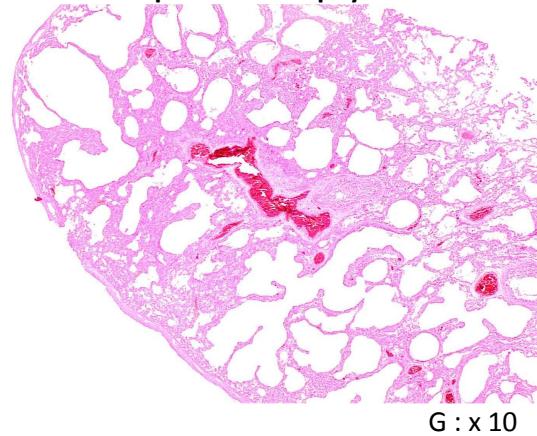


Photo 73 : Image microscopique d'une coupe de poumon : foyers de nécrose et de bactéries

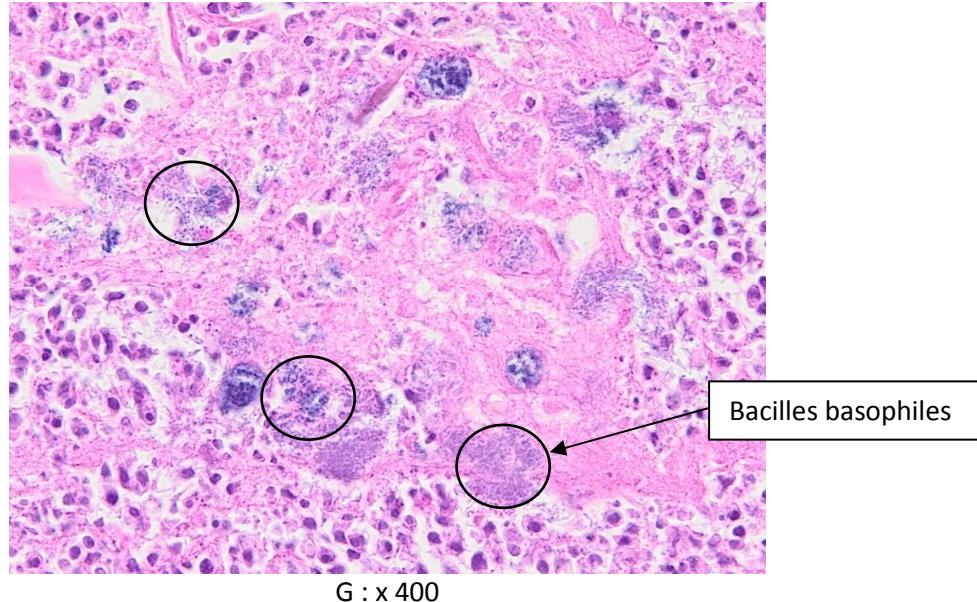
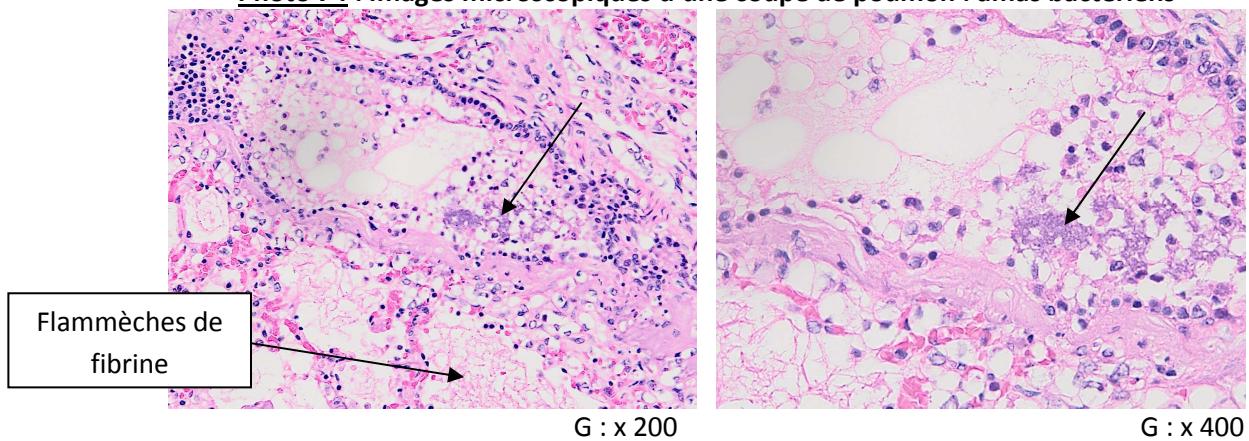


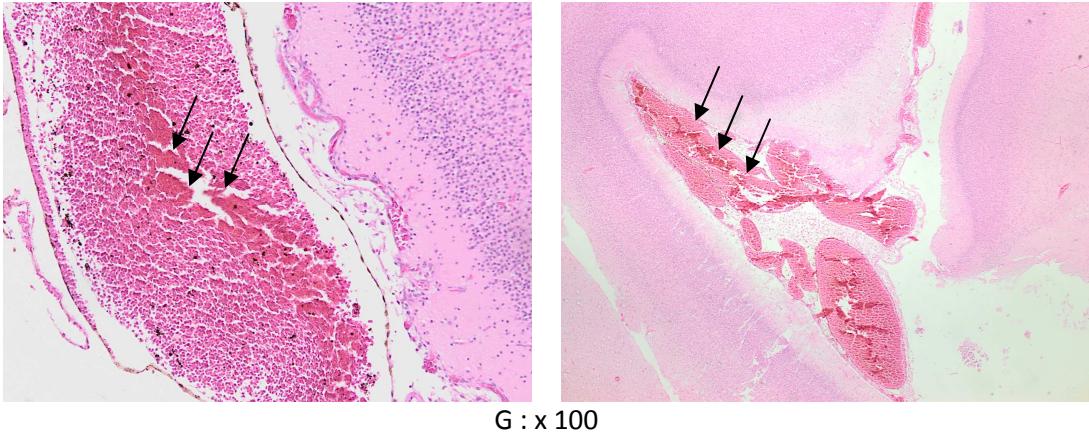
Photo 74 : Images microscopiques d'une coupe de poumon : amas bactériens



2.2.3.7. Les lésions de l'encéphale

Parmi les 31 encéphales analysés, 11 (35%) présentaient des lésions. 7 chiots présentaient une congestion (Photo 75), dont un avec foyers hémorragiques, 3 des images de méningite et/ou encéphalite. Enfin, des bactéries ont été observées sur 1 prélèvement.

Photo 75 : Images microscopiques d'une coupe de cerveau : congestion méningée sévère



2.2.3.8. Les lésions cutanées

Des prélèvements cutanés ont été réalisés pour 2 chiots présentant un érythème. L'analyse histopathologique a montré pour l'un des hémorragies superficielles associées à une congestion et un infiltrat inflammatoire sévère (Photo 77), et pour l'autre une dermite diffuse avec hémorragies et œdème périvasculaires (Photos 78 et 79). La photo 76 montre l'aspect histologique normal d'une coupe cutanée.

Photo 76 : Image microscopique d'une coupe de peau : absence d'anomalie

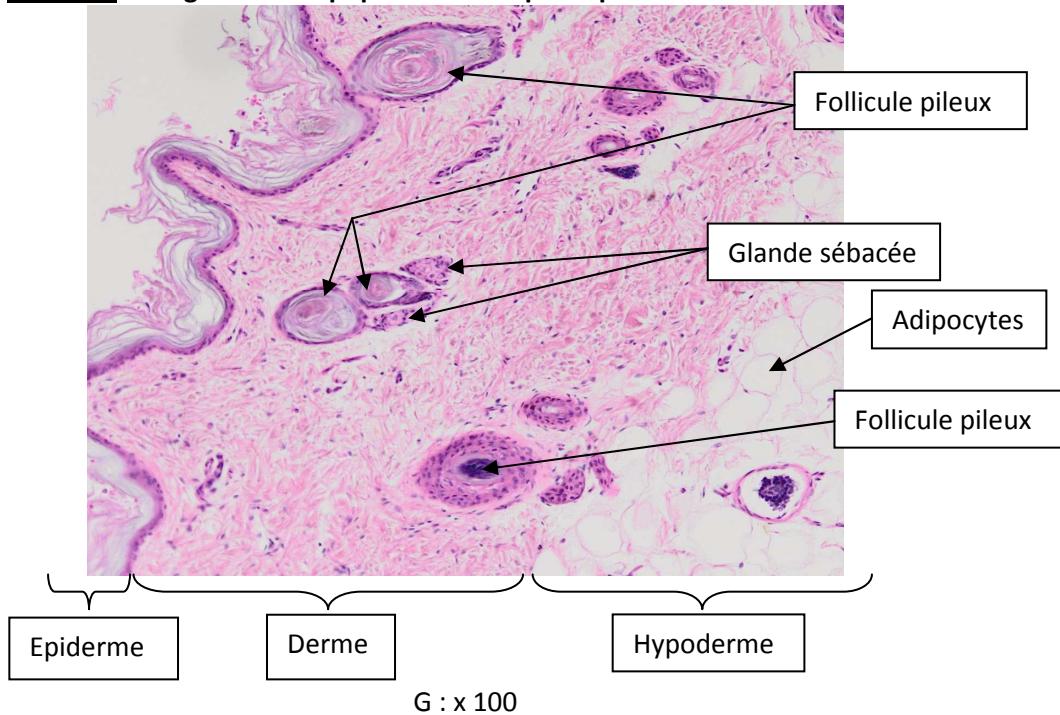


Photo 77 : Images microscopiques d'une coupe de peau : panniculite diffuse aiguë à subaiguë sévère

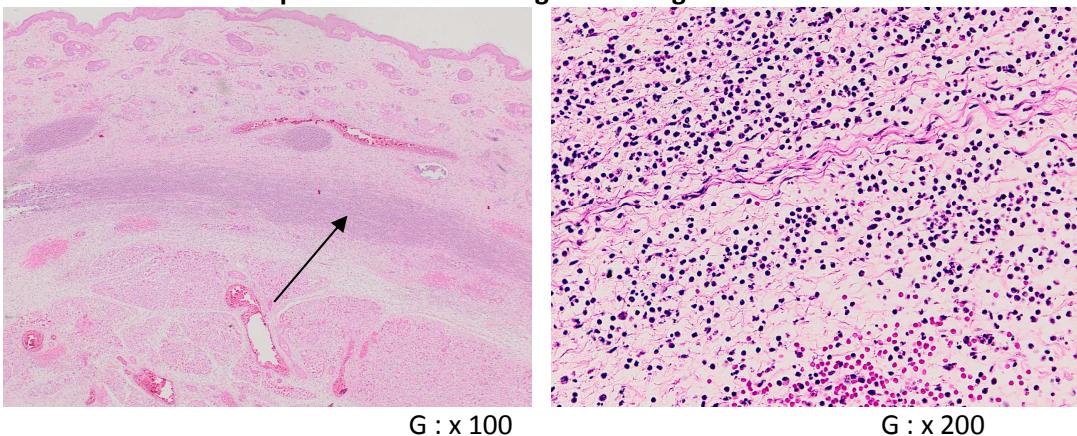


Photo 78 : Image microscopique d'une coupe de peau : hémorragies

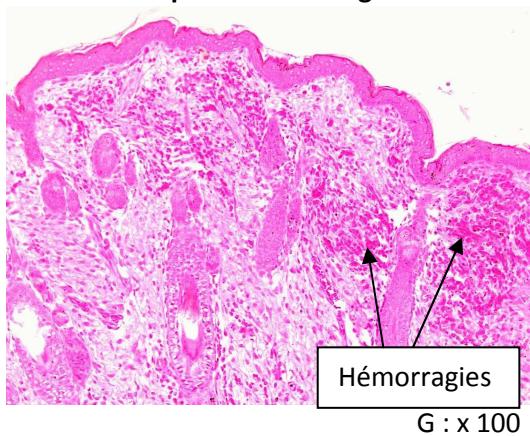
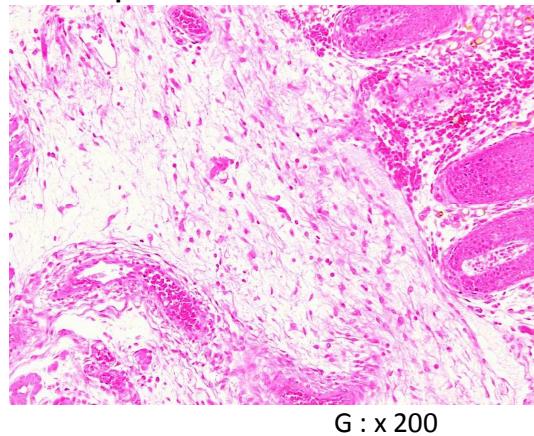


Photo 79 : Image microscopique d'une coupe de peau : dermatite diffuse et oedème

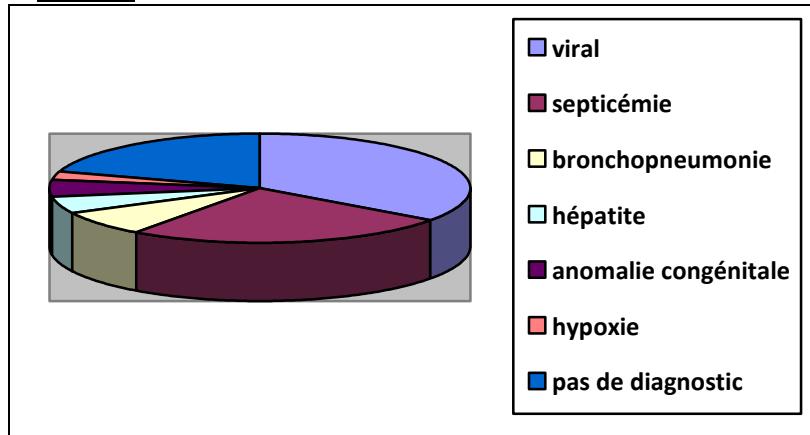


2.2.4. Les causes de mortalité rencontrées au cours de l'étude

Les causes de mortalité néonatale et pédiatrique rencontrées au cours de l'étude, tous individus confondus (les chiots analysés par histopathologie et ceux pour lequel le diagnostic a été défini sans avoir recours à l'histopathologie), excepté les chiots du lot 3 (issu d'un même élevage avec circulation de parvovirus et coronavirus, d'où un biais de prévalence), présentées dans la figure 1, étaient les suivantes : (40 chiots)

- Parvovirose : 30%
 - o Avec surinfection par un coronavirus entérique : 5%
 - o Avec surinfection par un coronavirus pantropique : 13%
- Herpès virose : 5%
- Septicémie : 25%
- Bronchopneumonie : 8%
- Hépatite : 5%
- Anomalie congénitale : 5%
- Hypoxie : 3%
- Absence de diagnostic : 20%

Figure 1 : Causes de mortalité rencontrées au cours de l'étude



L'herpès virus a été recherché par PCR chez 7 chiots (18%) au vu de

- lésions suspectes à l'autopsie : reins de taille inégale, hypertrophiés et boursouflés et/ou pétéchies : 3 chiots,
- commémoratifs évocateurs : forte mortalité néonatale, syndrome de déperissement, absence de vaccination des reproducteurs : 2 chiots,
- circulation connue du virus dans l'élevage : 2 chiots.

Des malformations congénitales ont été rencontrées à 2 reprises : il s'agissait d'une cardiomyopathie dilatée chez un chiot berger allemand de 3 jours, et d'une hydrocéphalie chez un croisé cocker de 28 jours.

2.2.5. Evaluation de l'histopathologie comme aide au diagnostic

Le tableau 12 résume, pour chaque chiot inclus dans l'étude, le diagnostic final établi et la part de l'examen histopathologique dans la démarche.

Tableau 12 : Diagnostic final établi pour la population étudiée

AGE	LABORATOIRE	DIAGNOSTIC à l'HISTOLOGIE	DIAGNOSTIC FINAL
LOT 1	0-15	A	NON
	0-15	A	OUI
	0-15	C	OUI
	0-15	C	OUI
	0-15	C	OUI
	0-15	A	NON
	0-15	A	Suspicion
	0-15	C	OUI mais pas primaire
	0-15	A	NON
	0-15	C	OUI
	0-15	C	OUI
	0-15	C	OUI
	15-73	A	Suspicion
	15-73	B	NON

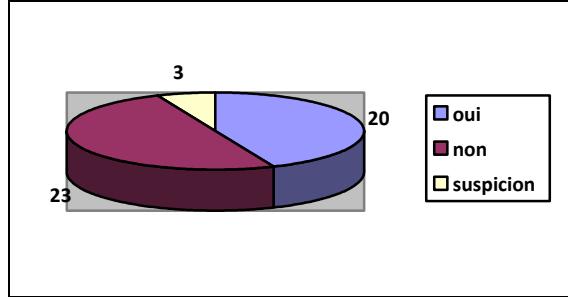
	15-73	B	NON	PARVOVIROSE/CCVp
	15-73	B	NON	PARVOVIROSE/CCVp
	15-73	B	NON	PARVOVIROSE
	15-73	B	OUI	PARVOVIROSE/CCVp
	15-73	B	NON	PARVOVIROSE

LOT 2	0-15	A	NON	Inconnu
	0-15	A	NON	Inconnu
	0-15	A	NON	HEPATITE
	0-15	A	NON	Inconnu
	0-15	A	NON	HYPOXIE
	0-15	A	OUI	BACTERIEN
	0-15	A	NON	Inconnu
	15-73	A	OUI	BACTERIEN
	15-73	A	NON	PARVOVIROSE
	15-73	A	NON	PARVOVIROSE/CCVe
	15-73	A	OUI	SEPTICEMIE
	15-73	D	OUI	PARVOVIROSE

LOT 3	0-15	A	OUI	SIRS
	0-15	A	OUI mais pas primaire	SEPTICEMIE (Parvovirose)
	0-15	A	NON	Inconnu
	0-15	A	Suspicion	SEPTICEMIE
	15-73	B	NON	PARVOVIROSE/CCVe
	15-73	B	NON	PARVOVIROSE/CCVe
	15-73	B	OUI	PARVOVIROSE
	15-73	B	NON	PARVOVIROSE
	15-73	B	OUI	PARVOVIROSE/CCVe
	15-73	A	NON	PARVOVIROSE/CCVe
	15-73	B	OUI	PARVOVIROSE/CCVp
	15-73	B	OUI	PARVOVIROSE/CCVp
	15-73	B	OUI	PARVOVIROSE/CCVe
	15-73	B	NON	PARVOVIROSE/CCVe

De ce tableau est issue la figure 2, qui répartit les cas en 3 catégories : les cas où l'histopathologie a permis de conclure à un diagnostic, les cas où elle a permis d'émettre une suspicion, et enfin les cas où elle n'a pas permis de statuer sur la cause de la mort.

Figure 2 : Apport de l'histopathologie au diagnostic pour la population étudiée



L'examen histopathologique seul a permis d'arriver à un diagnostic étiologique dans 20 cas sur 46, soit 43% : 9 septicémies, 7 parvoviroses, 2 asphyxies par bronchopneumonie, 1 Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique (SIRS) et 1 malformation cardiaque.

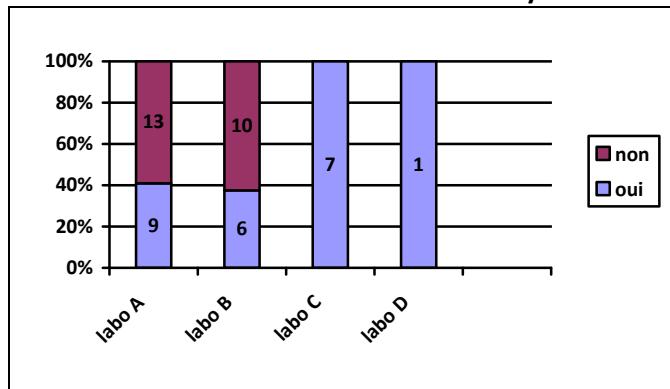
Dans 3 cas, soit 7%, cet examen a permis de soulever des hypothèses, sans établir de diagnostic de certitude : 2 suspicions de septicémie et 1 suspicion de parvovirose.

Dans les 50% de cas restant, en revanche, l'histopathologie n'a pas permis de mettre en évidence l'origine de la mortalité, ou de confirmer les résultats d'autres examens de laboratoire : 13 parvoviroses, 1 herpèsvirose, 1 hypoxie et 8 mortalités d'origine indéterminée.

2.2.5.1. Les résultats histopathologiques en fonction du laboratoire d'étude

Les prélèvements ayant été adressés au cours de l'étude à 4 laboratoires différents, un éventuel biais d'étude a probablement eu lieu. La figure 3 montre les résultats de l'examen histopathologique en fonction du laboratoire concerné.

Figure 3 : Apport de l'histopathologie au diagnostic de mortalité en fonction du laboratoire d'analyse

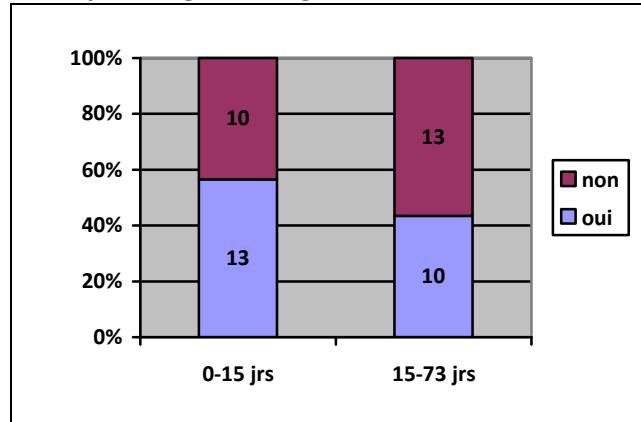


⇒ Le laboratoire réalisant l'analyse est probablement un facteur associé à l'établissement du diagnostic à partir de l'examen histopathologique.

2.2.5.2. Les résultats histopathologiques en fonction de l'âge du chiot

Dans un second temps, nous nous sommes demandé si l'âge du chiot (période néonatale ou pédiatrique) pouvait influer sur les résultats histopathologiques. La figure 4 présente les résultats de l'examen histopathologique en fonction de la classe d'âge du chiot.

Figure 4 : Apport de l'histopathologie au diagnostic de mortalité en fonction de l'âge du chiot



Le traitement statistique des données, par la méthode du Chi 2, nous donne le résultat suivant, en prenant pour hypothèse que les écarts observés sont dus aux fluctuations d'échantillonnage, et en s'autorisant une probabilité de risque d'erreur par excès α de 5% (5% de risque d'affirmer qu'il y a une différence entre les chiots appartenant à la période néonatale et ceux appartenant à la période pédiatrique alors qu'il n'y en a pas) :

$$\chi^2 = 0,78$$

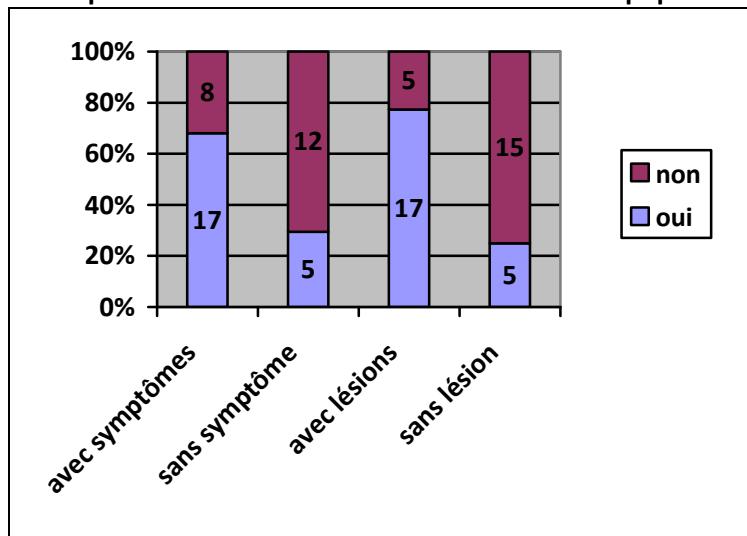
La valeur du χ^2 est inférieure à la valeur limite 3,84, pour un degré de liberté $ddl = 1$ et une probabilité du risque $\alpha = 0,05$ (TOMA *et al*, 2001). Cela nous amène à confirmer l'hypothèse initiale : les différences observées sont dues aux fluctuations d'échantillonnage.

⇒ L'âge du chiot n'est pas un facteur associé à l'établissement du diagnostic à partir de l'examen histopathologique.

2.2.5.3. Les résultats histopathologiques en fonction des symptômes exprimés et des lésions macroscopiques à l'autopsie

Nous avons recherché une relation entre l'expression de signes cliniques avant la mort ou la présence de lésions macroscopiques à l'autopsie et les résultats histopathologiques. La figure 5 montre les résultats de l'examen histopathologique en fonction de ces 2 paramètres.

Figure 5 : Apport de l'histopathologie au diagnostic de mortalité en fonction de la présence de symptômes exprimés avant la mort et de lésions macroscopiques à l'autopsie



NB : pour 4 chiots, les commémoratifs n'étaient pas renseignés donc la relation entre les signes cliniques avant la mort et les résultats histopathologiques n'a pas pu être évaluée. Pour 2 chiots, les organes présentant une putréfaction avancée lors de l'autopsie, la relation entre la présence de lésions et les résultats histopathologiques n'a pas été évaluée. Pour 2 chiots, le rapport d'autopsie n'étant pas disponible (autopsie réalisée par le vétérinaire traitant), la relation entre la présence de lésions et les résultats histopathologiques n'a pas été évaluée.

Dans le cas du facteur « expression de symptômes avant la mort », la valeur du Chi 2 ($\chi^2 = 6,04$) est supérieure à la valeur limite, 3,84, pour un degré de liberté $ddl = 1$ et une probabilité du risque $\alpha = 0,05$. Cela nous amène à rejeter l'hypothèse initiale : les différences observées ne sont pas dues aux fluctuations d'échantillonnage. Le facteur « expression de symptômes avant la mort » est donc lié à l'établissement du diagnostic à partir de l'examen histopathologique.

De même, dans le cas du facteur « présence de lésions à l'autopsie », la valeur du Chi 2 ($\chi^2 = 11,48$) est supérieure à la valeur limite, 3,84, pour un degré de liberté $ddl = 1$ et une probabilité du risque $\alpha = 0,05$. Cela nous amène à rejeter l'hypothèse initiale : les différences observées ne sont pas dues aux fluctuations d'échantillonnage. Le facteur « présence de lésions à l'autopsie » est bien liée à l'établissement du diagnostic à partir de l'examen histopathologique.

- ⇒ L'expression de signes cliniques avant la mort est liée à l'établissement du diagnostic à partir de l'examen histopathologique
- ⇒ La présence de lésions macroscopiques à l'autopsie est liée à l'établissement du diagnostic à partir de l'examen histopathologique

2.3. Discussion

2.3.1. La place de l'histopathologie dans le diagnostic de mortalité néonatale

Cette étude a permis de montrer un intérêt de l'examen histopathologique dans le cadre du diagnostic de mortalité néonatale et pédiatrique chez le chien dans 50 % des cas, avec 43 % de diagnostics de certitude et 7 % d'hypothèses diagnostiques établis à l'histopathologie.

Il est à noter que les lésions histopathologiques pathognomoniques des agents infectieux de type corps d'inclusion, rapportées dans la littérature, n'ont jamais été rencontrées dans notre étude. Cependant, pour les agents infectieux comme pour les causes non infectieuses de mortalité, il existe des lésions non pathognomoniques pouvant orienter le diagnostic, telle la congestion cérébrale en cas d'hypoxie.

2.3.1.1. Cas où l'histopathologie a représenté une réelle aide au diagnostic

L'examen histopathologique a permis de mettre en évidence la cause de la mort de la moitié des chiots. Dans l'immense majorité des cas, la cause était de nature infectieuse : 11 septicémies, 8 parvoviroses, 2 asphyxies par bronchopneumonie bactérienne et 1 SIRS. Pour un cas enfin, il s'agissait d'une anomalie congénitale de type cardiomyopathie dilatée.

Parmi les 21 chiots pour lesquels une PCR a permis de conclure à une parvovirose, l'histopathologie a mis en évidence les lésions pathognomoniques de raccourcissement des villosités, nécrose des cryptes et infiltration de la muqueuse pour 8 chiots (38%).

Pour 11 chiots, l'histopathologie a permis de conclure à une septicémie, par l'observation d'une congestion multicentrique avec foyers de nécrose et hémorragies (pétéchies), et inflammation suppurée de divers organes, parfois associé à l'observation de bactéries *in situ*. Cela représente un atout majeur de l'histopathologie dans le diagnostic de mortalité d'origine bactérienne, la bactériologie étant difficile à mettre en œuvre pour des questions de précocité d'échantillonnage.

2.3.1.2. Cas où l'histopathologie n'a pas permis d'aboutir à un diagnostic

2.3.1.2.1. La mauvaise qualité d'échantillonnage

Un certain nombre de facteurs limitant peut expliquer en partie l'absence de diagnostic histopathologique, tels que la qualité de conservation du cadavre, la rapidité de l'échantillonnage des organes après la mort, ou encore la représentativité de ces échantillons...

Ainsi, dans cette étude, 4 cas de parvovirose (confirmée par PCR sur écouillon rectal et sur divers organes tels que le foie, la rate, l'intestin) n'ont pas été détectés à l'histopathologie pour des questions d'échantillonnage : dans 2 cas l'intestin n'avait pas été prélevé et l'analyse histopathologique n'a donc pas porté sur cet organe qui est pourtant l'organe clé du diagnostic histopathologique de parvovirose ; dans les 2 autres cas, les prélèvements se sont révélés trop autolysés pour une lecture convenable des lames (Il s'agissait de chiots dont l'autopsie avait été

réalisée respectivement 5 et 8 jours après la mort et avait révélé des organes en partie putréfiés). Pour ces chiots, la réalisation d'une PCR a permis de palier au mauvais échantillonnage.

L'histopathologie est un examen précis et minutieux qui peut apporter des informations précieuses mais on peut facilement passer à côté par manque de rigueur. Il convient donc, afin d'optimiser les chances de résultat, de respecter les bonnes pratiques d'autopsie et d'échantillonnage.

2.3.1.2.2. Les lésions non spécifiques

De nombreuses lésions sont retrouvées fréquemment à l'histopathologie et ne sont pas pathognomoniques d'une atteinte en particulier.

Ainsi, la stase cadavérique, qui se met en place très rapidement après la mort, touche en premier lieu les organes « nobles », ce qui se traduit à l'examen histopathologique par une congestion marquée (foie, 20 chiots ; rein, 11 chiots ; cerveau, 7 chiots ; cœur, 6 chiots). On ne peut donc rien conclure devant de telles images de congestion sur ces organes. (REYES GOMEZ, 2011)

De même, l'intestin étant le premier organe souffrant du choc chez le chien, il est classique d'observer, consécutivement à des troubles de la microcirculation, une congestion des villosités avec exsudation vers le chorion et une nécrose de l'extrémité des villosités avec parfois dépôt de fibrine (SANDRITTER, 1974). De telles lésions ont été observées chez 14 chiots.

La rate également est un haut lieu de réponse de l'organisme à toute atteinte inflammatoire systémique. Cela se traduit par l'apparition de lésions microscopiques assez constantes et généralement prédictibles : toute septicémie ou toxémie due à des bactéries Gram - entraîne une rapide accumulation de granulocytes neutrophiles dans la zone marginale et autour des sinus (JUBB *et al.*, 2007). De telles lésions ont été observées chez 2 chiots.

Les lésions de pneumonie interstitielle (infiltration des septa alvéolaires mononucléée) observées chez 21 chiots (46%), en particulier en cas de parvovirose (8 chiots, soit 38% des chiots morts de parvovirose), sont expliquées par un sepsis terminal à bactéries Gram - associé à une endotoxémie, phénomène commun dans les cas fatals (JUBB *et al.*, 2007).

D'autres lésions pulmonaires peuvent être observées de manière non spécifique à l'examen microscopique, comme l'atélectasie. Le sepsis est à l'origine d'un dysfonctionnement du surfactant qui, associé à des lésions directes des cellules productrices du surfactant (pneumocytes de type 2) due au relargage de cytokines inflammatoires, provoque des anomalies de tension de surface dans les alvéoles et une atélectasie (JUBB *et al.*, 2007). Une atélectasie a été observée chez 6 chiots, dont 3 morts de septicémie, 3 de cause inconnue, et un d'hypoxie.

Enfin, l'oedème alvéolaire et l'emphysème (marginal souvent) sont des lésions terminales très fréquemment retrouvées à l'examen histopathologique. (REYES GOMEZ, 2011)

L'observation de ces différents types de lésions à l'histopathologie ne permet donc pas de conclure à un diagnostic de mortalité et doit inciter le vétérinaire à rechercher la cause primitive (virus sous-jacent, septicémie, foyer infectieux localisé...) par d'autres images microscopiques plus évocatrices comme par d'autres techniques de laboratoire (PCR et bactériologie en particulier).

2.3.1.2.3. Les risques d'erreur d'interprétation

Il convient également de se méfier des erreurs d'interprétation des lames, en particulier dans l'observation d'un infiltrat inflammatoire.

Par exemple, il faut faire preuve de prudence lors d'observation d'infiltrats parenchymateux et périvasculaires au sein du foie (Figure 51), car c'est une localisation classique pour les foyers d'hématopoïèse, physiologiques au stade néonatal.

De même, il est possible de confondre une pneumonie interstitielle (épaississement des septa alvéolaires par un infiltrat inflammatoire) avec un artefact causé par un emphysème pulmonaire, lequel provoque un écrasement des septa, leur conférant un aspect épais. Pour en faire la distinction, il convient de rechercher les capillaires sanguins : si l'on observe plusieurs lumières de capillaires, il s'agit de 2 septa différents accolés par la compression et non pas d'un seul septa épais par un infiltrat inflammatoire.

Enfin, dans la caractérisation de l'infiltrat inflammatoire, on peut aisément être induit en erreur, par exemple dans l'observation de cellules dont le noyau apparaît rond. C'est le cas de la figure 65 : il s'agit en réalité vraisemblablement de granulocytes neutrophiles (cellules à noyau segmenté) dont le noyau a gonflé sous l'effet de l'autolyse, lui conférant cet aspect mononucléé. Une observation trop hâtive ferait conclure à une bronchiolite subaiguë alors qu'il s'agit en réalité d'une bronchiolite suppurée ou aiguë (il est en effet très rare d'observer des lymphocytes dans une bronchiole, REYES GOMEZ, 2011)

Outre les erreurs d'interprétation inhérentes à l'examen en lui-même, on doit tenir compte du fait que les prélèvements analysés ne proviennent pas d'un animal adulte mais d'un nouveau-né, avec des particularités anatomiques et physiologiques à ne pas confondre avec un processus pathologique. On pourra ainsi observer des foyers d'hématopoïèse extra-médullaires (dans la rate et le foie), des images de stéatose microvacuolaire dans le foie, des glomérules rénaux immatures (apparaissent bleutés lors d'une coloration classique) ou encore la présence d'occasionnels macrophages dans les alvéoles pulmonaires.

2.3.1.3. Conditions de recours à l'histopathologie

Dès le stade de l'autopsie, il arrive que le vétérinaire puisse établir un diagnostic précis. Par exemple, dans notre étude, 6 chiots ont présenté des traces de lait autour de la truffe et dans la cavité buccale, ainsi que tout le long de l'œsophage et en grande quantité dans l'estomac. Ces observations évoquent soit un excès de gavage de la part de l'éleveur, soit un arrêt de transit, possiblement d'origine infectieuse et/ou secondaire à une hypothermie. Parmi ces 6 chiots, 3 ont présenté du lait à l'ouverture de la trachée et 1 un liquide blanc mousseux à la section du parenchyme pulmonaire. Ces considérations permettant de conclure à une bronchopneumonie par fausse déglutition sans doute liée à une fausse route lors du biberonnage, et probablement responsable de la mort du chiot, l'intérêt de compléter les investigations par une analyse histopathologique est controversé et représente un coût supplémentaire pour l'éleveur sans apporter de conclusion différente. En revanche, en cas de stase alimentaire seule, l'histopathologie apporte un réel complément d'informations dans la recherche d'une origine infectieuse.

Dans le cas du virus de la parvovirose, 21 chiots ont présenté un résultat positif à la PCR. Parmi ces 21 chiots, seuls 8 (38%) ont montré des lésions d'entérite arégénérative pathognomoniques. Les 62% restant n'ont pas montré de lésion histopathologique pouvant orienter le diagnostic vers une entérite virale. Cette absence de lésions microscopiques, outre un mauvais

échantillonnage, pourrait s'expliquer par une évolution suraiguë de la maladie, ne laissant pas le temps aux lésions de se mettre en place. En effet, on détecte la présence de virus infectant dans les selles par PCR dès 3 à 5 jours après infection, et les signes cliniques se mettent en place dans les 3 à 5 jours après infection (phase virémique) ; mais les lésions microscopiques ne seront observées qu'en phase avancée de la maladie. En cas de mort subite, les lésions n'ont pas le temps d'apparaître. Observer un raccourcissement des villosités par exemple nécessite que le temps d'un cycle de renouvellement de la muqueuse se soit écoulé.

En conclusion des observations, on peut retenir que l'analyse histopathologique est fortement recommandée lors de mortalité

- Chez des chiots de tout âge (période néonatale et pédiatrique),
- Présentant des lésions macroscopiques à l'autopsie,
- En particulier en cas de suspicion d'origine infectieuse,
- Pour lesquels la qualité de conservation et la rapidité d'échantillonnage a été respectée.

Enfin, la fréquente observation à l'autopsie d'une congestion généralisée et d'un météorisme intestinal, parfois associés à des pétéchies, laisse à penser que l'implication des phénomènes de septicémie dans la mortalité néonatale canine est largement sous-estimée. Envisager un recours systématique à la bactériologie en l'absence de diagnostic histopathologique permettrait probablement d'aboutir à un diagnostic étiologique dans de nombreux cas où les examens de laboratoire « classiques » (autopsie, PCR, histopathologie) se sont révélés infructueux.

Le coût de l'analyse histopathologique est variable d'un laboratoire à l'autre, certains proposant une tarification à l'individu (ex : 60 € pour l'analyse d'un chiot, quelque soit le nombre d'organes à analyser), d'autre une tarification à la coupe (ex : 5 € la coupe, soit 25 € pour 5 organes, 35 € pour les 7 organes habituels, 40 € si ajout d'une pièce anatomique supplémentaire).

2.3.2. Débouchés et critique de l'étude

2.3.2.1. Débouchés de l'étude

Une première publication de résultats a vu le jour en cours d'étude, à l'occasion du 14^{ème} congrès de l'EVSSAR (European Veterinary Society for Small Animal Reproduction) qui s'est tenu à Milan le 4 mars 2011. Des résultats intermédiaires y ont été présentés sous la forme d'un abstract (Annexe 8) et d'un poster (Annexe 9).

Deux projets d'articles sont à l'étude : un projet d'article à destination de la presse scientifique anglophone, et un article « grand public » destiné aux revues cynotechniques.

2.3.2.2. Limites de l'étude

La représentativité de l'étude est avant tout limitée par le faible nombre d'individus inclus dans l'étude : 46 chiots au total. Cela diminue l'intérêt des analyses statistiques.

D'autre part, le manque de standardisation de l'étude limite les interprétations que l'on peut en faire. Ainsi la population de chiots a-t-elle été scindée en 3 lots afin d'éviter les biais d'interprétation statistique. Au cours de l'étude *sensu stricto* (de février 2010 à mars 2011), tous les chiots autopsiés à l'UMES ont vu leurs organes analysés par histopathologie (lot 1). Mais un certain nombre de dossiers antérieurs à cette période ont été incorporés à l'étude afin d'augmenter le pouvoir statistique (lot 2). Ceci introduit un premier biais d'étude car à l'époque, tous les chiots ne subissaient pas systématiquement un examen histopathologique. Celui-ci n'avait lieu qu'en fonction des lésions rencontrées à l'autopsie d'une part, et de l'investissement de l'éleveur d'autre part. L'analyse histopathologique n'étant pas systématique sur tout épisode de mortalité néonatale, les chiffres s'en trouvent modifiée. Enfin, un nombre important de chiots provenaient d'un seul et même élevage (lot 3), responsable d'un second biais d'étude, d'autant plus important qu'une circulation de parvovirus était reconnue dans cet élevage.

Enfin, l'intervention de plusieurs protagonistes dans l'étude, en particulier 4 laboratoires différents, contribue encore au manque de standardisation et à la difficulté d'interprétation des résultats fournis.

2.3.2.3. Proposition d'investigations supplémentaires

Afin de déterminer avec plus de précision le pouvoir diagnostique de l'histopathologie, une étude complémentaire est à envisager.

Celle-ci comprendra un nombre de chiots beaucoup plus importants, en provenance d'élevages différents. Chaque chiot subira une batterie d'analyses standardisée quels que soient ses antécédents, comprenant bien sûr l'analyse histopathologique des principaux organes (intestin grêle, foie, rein, cœur, rate, thymus, encéphale) ainsi que des organes présentant des lésions notables à l'autopsie (tels qu'un nœud lymphatique hypertrophié, un estomac parsemé de pétéchies, un pancréas induré...), mais également une bactériologie générale et une recherche systématique des principaux agents infectieux par PCR (herpès virus, virus minute, mycoplasmes, parvovirus et coronavirus).

La connaissance pour chaque chiot de commémoratifs précis, d'un examen nécropsique minutieux, et d'une analyse histopathologique complète à la lumière des résultats bactériologiques et de PCR permettra seule d'estimer le pouvoir diagnostique de l'histopathologie et les conditions dans lesquelles son recours est le plus pertinent.

CONCLUSION

Cette étude, réalisée sur 46 chiots appartenant à la période néonatale (0-15 jours : 23 chiots) et pédiatrique (15-75 jours : 23 chiots), a permis de montrer un intérêt de l'examen histopathologique dans le cadre du diagnostic de mortalité en élevage canin dans 50 % des cas, avec 43 % de diagnostics de certitude et 7 % d'hypothèses diagnostiques établis à l'histopathologie.

Elle met en évidence les difficultés de l'examen histopathologique et les risques d'erreur d'interprétation inhérents à l'examen ainsi qu'à la qualité des échantillons. L'examen histopathologique trouve parfaitement sa place parmi les autres examens de laboratoires tels que la bactériologie et la PCR, et devrait être proposé pour toute investigation de mortalité néonatale et pédiatrique en élevage, chez des chiots présentant des lésions macroscopiques à l'autopsie, en particulier lorsqu'une hypothèse infectieuse est envisagée. Afin d'optimiser les chances d'aboutir à un diagnostic, les prélèvements d'organes (intestin, foie, rein, cœur, rate, thymus, poumon, encéphale et tout organe présentant des lésions macroscopiques ou susceptible de présenter des altérations microscopiques dans le cas d'une hypothèse diagnostique particulière) sont à réaliser dans le respect strict des bonnes pratiques d'échantillonnage et de conservation, le plus précocement après la mort du chiot.

Ce travail est à notre connaissance la première étude s'intéressant à la place de l'histopathologie dans le diagnostic de mortalité néonatale et pédiatrique en élevage canin, et proposant des valeurs chiffrées. Il pourra servir de base de recherche et fournir des éléments de comparaison à d'autres études se déroulant à plus grande échelle et de manière plus standardisée.

BIBLIOGRAPHIE

- ADAM W, CALHOUN M, SMITH E *et al.* (1970). *Microscopic Anatomie of the Dog. A Photographic Atlas*. Springfield, Illinois (USA) : Thomas, 292p.
- ANTOINE N (2010) Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Secteur Histologie, communication personnelle.
- APPEL M. (1971) Canine Distemper. In : *Kirk's Current Veterinary Therapy VI, Small Animal Practice*. Philadelphia : Saunders, 1308-1313.
- BANKS W. (1993) *Applied Veterinary Histology*. 3thd ed. Saint Louis (USA) : Mosby, 527p
- BLUNDEN T. (1988) Diagnosis and treatment of common disorders of newborn puppies. *Canine Pract.* **10**(5), 175-184.
- BOUNIAS V. (2003) *Le rôle des virus dans les avortements et la mortinatalité chez le chien*. Thèse Méd. Vét., Toulouse, N°4034.
- BRAU S, CASSELEUX G. (2004) Comment réaliser une autopsie chez le chiot et le chaton. *Nouv. Prat. Vét.*, **17**, 33-37.
- BRUCHIM A, LUTSKY I. (1978) Isolation of Mycoplasmas from the canine genital tract : a survey of 108 healthy dogs. *Res. Vet. Sci.* **25**, 243-245.
- CARMICHAEL L. (1971) Canine brucellosis. In : *Kirk's Current Veterinary Therapy VI, Small Animal Practice*. Philadelphia : Saunders, 1315-1318.
- CARMICHAEL L. (1971) Canine Herpesvirus infection in puppies. In : *Kirk's Current Veterinary Therapy VI, Small Animal Practice*. Philadelphia : Saunders, 1296-1297.
- CARMICHAEL L, KENNEDY R. (1968) Canine abortion caused by Brucella Canis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **152**, 605-616.
- CARMICHAEL L, SQUIRE R, KROOK L. (1965) Clinical and pathological features of a fatal virus disease of new born pups. *Am. J. Vet. Res.*, **26**, 803-814.
- CHALKER V. (2005) Canine mycoplasmas. *Res. Vet. Sci.* **79**, 1-8
- CONVERS J. (2001) *Modalités et finalité de l'autopsie du chiot dans le diagnostic des maladies infectieuses en élevage : réalisation d'un CD-rom*. Thèse Méd. Vét., Alfort, N°115.
- DUMON C. (1992) Pathologie périnatale du chiot. *Reproduction du chien et du chat*. Paris : PMCAC In : *Les indispensables de l'animal de compagnie*, 109-120.
- DUMON C. (2005) Pathologie néonatale du chiot. *EMC-Vétérinaire*, 30-53.

DUMON C, MIMOUNI P. (2005) Mortinatalité en élevage canin liée à des maladies infectieuses : brucellose, herpès virose, mycoplasmose. *EMC-Vétérinaire*, **2**(1), 54-62.

FAVIER F. (2001) *Avortements et mortalité néonatale en élevage canin : approche pratique du vétérinaire*. Thèse Méd. Vét., Alfort, N°39.

FOX M. (1963) Neonatal mortality in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **143**(11), 1219-1223.

GRELLET A. (2009) Virus minute : un agent responsable de troubles de la reproduction chez le chien ? *Dépêche vét.* **1039**, 9.

GUNN-MOORE D. (2006) Small animal neonatology : they look normal when they are born and then they die. In : *Proceedings of the 31th WSAVA/ 12th FECAVA/ 14th SCAVA world congress*, Prague, Czech Republic, 11-14 october, 714-720.

HOLLETT R. (2006) Canine brucellosis : outbreaks and compliance. *Theriogenology*. **66**, 575-587

HOSKINS J. (1995) Fading puppy and kitten syndrome. In : Bonagura JD, Kirk RW : *Kirk's Current Veterinary Therapy XII, Small Animal Practice*. Philadelphia : Saunders, 30-33.

JUBB K, KENNEDY P, PALMER N. (2007) *Pathology of domestic animals*. (Vol 1), 5th ed. Philadelphia : Saunders, 899p.

JUBB K, KENNEDY P, PALMER N. (2007) *Pathology of domestic animals*. (Vol 2), 5th ed. Philadelphia : Saunders, 771p.

JUBB K, KENNEDY P, PALMER N. (2007) *Pathology of domestic animals*. (Vol 3), 5th ed. Philadelphia : Saunders, 737p.

LEIN D. (1986) Canine mycoplasma, ureaplasma, and bacterial infertility. In : *Kirk's Current Veterinary Therapy IX, Small Animal Practice*. Philadelphia : Saunders, 1240-1243.

LE PODER S, ELOIT M. (2007). *Virologie – S7 (Version 4)*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Virologie, 326p.

MIMOUNI P. (1996) Mycoplasmes et pathologie de la reproduction chez le chien. *Point Vét.* **28** (180), 789-792.

MOSIER J. (1974) Causes and treatment of neonatal deaths. In : *Kirk's Current Veterinary Therapy V, Small Animal Practice*. Philadelphia : Saunders, 52-55.

PURSWELL B. (1992) Differential diagnosis of canine abortion. In : Bonagura JD, Kirk RW : *Kirk's Current Veterinary Therapy XI, Small Animal Practice*. Philadelphia : Saunders, 925-929.

REYES GOMEZ E. (2011) Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité d'histologie, anatomie pathologique, communication personnelle.

SANDRITTER W. (1974) *Manuel et Atlas d'Histopathologie*. 4^{ème} ed. Paris : Masson et Cie, 306p.

SEGUELA J, MIMOUNI P. (2008) La réanimation néonatale : comment (ré)agir. *Point Vét.* (N° spécial *Actualités en reproduction du chien et du chat*). **39**, 55-61.

SMITH K. (1997) Herpesviral abortion in domestic animals. *Vet. J.*, **153**, 253-268.

Société Centrale Canine, *Le Site Officiel du Chien de Race*, [en-ligne], 2011, [<http://www.chiens-online.com/nos-fiches-evolutions-du-lof-et-tendances-liees-au-chien-de-race-entre-2001-et-2010-fiche-1469.html>], (consulté le 27 septembre 2011).

TOMA B, DUFOUR B, SANAA M, et al. (2001) Epidémiologie appliquée à la lute collective contre les maladies animales transmissibles majeures. 2^{ème} ed. Paris : AEEMA, 606-615.

VERSTEGEN J, DHALIWAL G, VERSTEGEN-ONCLIN K. (2008) Canine and feline pregnancy loss due to viral and non-infectious causes : A review. *Theriogenology*, **70**, 304-319.

Annexe 1 : Recommandations aux éleveurs pour l'envoi de chiots à autopsier



RECOMMANDATIONS POUR L'ENVOI DE CHIOTS/CHATONS A AUTOPSIER

Si vous souhaitez faire autopsier vos chiots/chatons par l'UMES il est important de noter que la précision de nos conclusions dépendra de l'état de conservation de l'animal et donc indirectement de la rapidité de l'envoi, ainsi que de la précision des informations que vous pourrez nous apporter.

Pour ce faire, nous vous prions de bien vouloir :

- remplir le questionnaire type de l'UMES (vous pouvez le demander à l'adresse agrellet@vet-alfort.fr);
- envoyez les animaux de préférence réfrigérés à l'adresse indiquée et en début de semaine (problèmes de transport le week-end).

Pour optimiser la conservation, le mieux est d'utiliser des sacs isothermes et étanches dans lesquels vous placerez les animaux avec des morceaux de coton que vous aurez préalablement humidifiés (et non mouillés) et placés quelques heures au congélateur. Ces sacs sont parfois disponibles en pharmacie pour le transport de vaccins.

Le colis contenant le questionnaire et les animaux sera ensuite envoyé à l'adresse suivante :

**Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport
Dr Aurélien Grellet
7 avenue du Général de Gaulle
94704 Maisons-Alfort cedex**

Si vous nous envoyez plusieurs animaux :

- de la même portée : veuillez les identifier et remplir un seul questionnaire,
- de portées différentes : veuillez les identifier et remplir un questionnaire par portée.

Tarif : 19,25€ TTC

Forfait à partir de 2 animaux : 12,54€ TTC

Merci.

Annexe 2 : Questionnaire aux éleveurs **de demande d'autopsie de chiots**



DEMANDE D'AUTOPSIE CHIOTS/CHATONS

A envoyer avec les animaux à autopsier

Remplissez précisément ce questionnaire, vos réponses nous aideront à poser un diagnostic. Lorsque vous envoyez des animaux de portées différentes, merci de remplir une feuille par groupe d'animaux en les identifiant.

ELEVEUR

Nom :
Prénom :
Adresse :
CP : Ville :
Téléphone :
Fax :
Mail :

VETERINAIRE

Nom :
Prénom :
Adresse :
CP : Ville :
Téléphone :
Fax :
Mail :

Etes-vous référé par votre vétérinaire ? Oui Non

CHIOTS/CHATONS A AUTOPSIER

Espèce :

Race :

Date de naissance :

Nombre d'animaux à autopsier :

Animal n°						
Sexe						
Décédé le						

Signes cliniques observés (précisez)

- Généraux :
- Locaux :
- Respiratoires :
- Digestifs :
- Urinaires :
- Autres :

Un traitement a-t-il été entrepris ? Oui Non

Si oui, lequel ? (remplissez le tableau ci-dessous)

Nom déposé				
Posologie				
Durée du traitement				
Effets				

PORTEE

Taille : dont morts nés, morts avant 8 jours, morts avant 15 jours.

MERE

Nom : Date de naissance :

Date saillie :

Un suivi de chaleurs a-t-il été réalisé chez votre vétérinaire ? Oui Non

Date dernière vaccination :

Valences utilisées :

Dernière vermifugation (date, spécialité utilisée) :

Espèce canine :

- Vaccination herpès

Oui (dates : , résultat :)
 Non
- Test herpes

Oui (date : , résultat :)
 Non
- Test brucellose

Oui (date : , résultat :)
 Non

Espèce féline :

- Test FIV

Oui (date : , résultat :)
 Non
- Test FeLV

Oui (date : , résultat :)
 Non
- Typage groupes sanguins Oui Non
- Autre test (type, date, résultat) :

Signes cliniques observés (précisez)

- Généraux :
- Locaux :
- Respiratoires :
- Digestifs :
- Urinaires :
- Autres :

Un traitement a-t-il été entrepris ? Oui Non
 Si oui, lequel ? (remplissez le tableau ci-dessous)

Page 2 sur 4

Nom déposé				
Posologie				
Durée du traitement				
Effets				

Chiots/chatons issus de la portée n°

Si la mère est multipare, avez-vous rencontré des problèmes particuliers lors des précédentes portées (avortement, mortinatalité, ...) ? Oui Non
Si oui lesquels ?

ELEVAGE

Nombre de chiens/chats dans l'élevage : dont mâles et femelles

Si vous êtes éleveur de chiens (chats), élevez-vous aussi des chats (chiens) ?

Oui Non

Avez-vous introduit récemment un (ou plusieurs) nouveau(x) reproducteur(s) dans votre élevage ?

Oui Non

Si oui,

- A quelle date ?
- L'avez-vous mis en quarantaine ? Oui Non
- Précisions éventuelles (tests réalisés, lieu et durée de quarantaine,...) :

D'autres problèmes ont-ils été rencontrés lors de précédentes portées avec d'autres femelles ?

Oui Non

Si oui, lesquels ? (symptômes, traitement, effet)

D'autres tests ou investigations ont-ils été déjà réalisés dans votre élevage ou sur vos reproducteurs par votre vétérinaire traitant ? Oui Non

Si oui lesquels ?

Si elles sont nécessaires, souhaitez-vous que d'autres analyses complémentaires soient réalisées (*Il est nécessaire pour cela de conserver les prélèvements mais les analyses ne seront réalisées qu'avec votre accord après entretien téléphonique*) ?

Oui Non



Avez-vous d'autres remarques ou précisions ?

Merci.

Annexe 3 : Prélèvements d'organes pour PCR chez le chiot

	Cerveau	Poumon	Cœur	Foie	Rate	Estomac	Pancréas	Intestin	Rein	Vessie
Herpèsvirose		X		X					X	
Neosporose	X			X						
Virus minute		X	X					X		
Mycoplasmose	X	X		X						
Parvovirose*			X					X		
Maladie de Carré	X	X				X	X	X		X
Leptospirose				X	X				X	

* En pratique, la PCR parvovirus de type 2 se fait préférentiellement sur écouvillon rectal.

Annexe 4 : Rapport



Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport



Maisons Alfort, le / / 2009

RAPPORT

Propriétaire :

Nom : Prénom :

Adresse :

Tél :

Vétérinaire traitant :

Nom : Prénom :

Adresse :

Tél :

Animal :

Espèce :

Age :

Race :

Sexe :

Poids :

Facturation :

Adresse d'envoi des résultats :

1) Ecole Nationale Vétérinaire

UMES

Dr Aurélien Grellet
7 avenue du général de Gaulle
94704 Maisons-Alfort Cedex

2)

3)

A. GRELLET
Vétérinaire - Secteur Elevages Canin et Félin
Tel : 01 43 96 72 04

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
7 avenue du Général de Gaulle
94704 Maisons-Alfort Cedex
Tél : 01 43 96 71 00 - Fax 01 43 96 71 25
Internet : www.vet-alfort.fr



Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport



COMMEMORATIFS



A. GRELLET
Vétérinaire - Secteur Elevages Canin et Félin
Tel : 01 43 96 72 04

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
7 avenue du Général de Gaulle
94704 Maisons-Alfort Cedex
Tél : 01 43 96 71 00 - Fax 01 43 96 71 25
Internet : www.vet-alfort.fr



COMPTE-RENDU D'AUTOPSIE

Lésions macroscopiques :

Examen général

Appareil digestif & annexes

Appareil circulatoire

Appareil respiratoire

Appareil urinaire

Système nerveux central

Appareil génital

Organes hémato-lympho-poiétiques

Conclusion de l'autopsie :

A. GRELLET
Vétérinaire - Secteur Elevages Canin et Félin
Tel : 01 43 96 72 04

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
7 avenue du Général de Gaulle
94704 Maisons-Alfort Cedex
Tél : 01 43 96 71 00 - Fax 01 43 96 71 25
Internet : www.vet-alfort.fr



PRELEVEMENTS REALISES

Prélèvements pour la recherche de :	Réalisés	Envoyés
Néospora	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Herpès virus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Brucella	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mycoplasme	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Virus minute (CPV-1)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Leptospires	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Carré	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Parvovirus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Coronavirus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Calicivirus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rubarth	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Histologie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

RESULTATS DES ANALYSES EFFECTUEES

Prélèvements pour la recherche de :	Résultats
Néospora	
Herpès virus	
Brucella	
Mycoplasme	
Virus minute (CPV-1)	
Leptospires	
Carré	
Parvovirus	
Coronavirus	
Calicivirus	
Rubarth	
Histologie	

Rapport d'histologie



Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport



BILAN GENERAL

Conclusion

A. GRELLET

Secteur élevages canin et félin

A. GRELLET
Vétérinaire - Secteur Elevages Canin et Félin
Tel : 01 43 96 72 04

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
7 avenue du Général de Gaulle
94704 Maisons-Alfort Cedex
Tél : 01 43 96 71 00 - Fax 01 43 96 71 25
Internet : www.vet-alfort.fr

Annexe 5 : Tableau bilan des lots 1 et 2 (1^{ère} partie)

COMMEMORATIFS				RAPPORT D'AUTOPSIE						RESULTATS						LESIONS HISTO						BILAN			
race	age (en jours)	sex (1= male; 2= female)	identification	signes cliniques observés		examen externe	appareil digestif	appareil respiratoire	appareil circulatoire	appareil nerveux central	myco	CPV1	Corona	parvo	herpès	rubarth	autre	foie	rate	rein	Intestin	Poumons	Cœur	Cerveau	Pièce anatomique particulière
bouledogue français	56	1	BF0302	signes digestifs (diarrées et vomissements), mort au bout de 7 jours		nez et région péritonale souillés	congestion ++++ d'une portion du larynx-épiglottis avec mousseux à la coupe lobé	poumons rose clair, liquide mousseux à la coupe lobé	0	pas de distinction de la jonction cortico-médullaire			négatif	positif				congestion		congestion	entité subaiguë à chronique avec dilatation des cryptes	pneumonie interstitielle subaiguë modérée	N. mesenterique	Panovirose + pneumonie	
boxer	< 7	1	B1712-1	portée de 7 chiots dont 4 meurent entre 8 et 10 jours, morte au bout de 10 jours		nez et région péritonale souillés	nez et région péritonale souillés	lait calé en grande quantité dans l'œsophage et la truffe	0		poumons piquetés, liquide pénétrant congegelé	0	0	0	négatif			négatif		0	0	histolyse de la muqueuse	pneumonie interstitielle subaiguë sévère	congestion sévère	Suspicion d'Herpès car PCR positive sur un autre chiot de la portée
		1	B1712-2	portée de 7 chiots dont 4 décèdent, traitée à la Céphalothine, morte au bout de 10 jours		nez et région péritonale souillés	nez et région péritonale souillés	lait dans l'œsophage sur toute sa longueur, autolyse	0	congestion, test de flottaison positif (coule)	0	0	0	négatif			charge viscérale faible					foyers inflammatoires intraparenchymatex eux et péribronchiques	Thymus : corpsules de Hassall	Herpèsvirose fortement suspectée	
boxer	< 7	?	B1203-1	portée de 7 chiots dont 5 décèdent, traitée à la Céphalothine, morte au bout de 10 jours		nez et région péritonale souillés	nez et région péritonale souillés	lait dans l'œsophage et la truffe, décoloration avec violacité, hépatose	0		lait dans le lobé médiol droit, de couleur violacée, hépatose	0	0	0	négatif			négatif			glomérules fastaux	histolyse de la muqueuse, cryptes intégrées, villosités agitées	0	Bronchopneumonie très sévère : chiot mort d'asphyxie	
		?	B1203-2	portée de 7 chiots dont 5 décèdent, 1 injection d'Eukan Herpès sur la mère avant la mise-bas		nez et région péritonale souillés	nez et région péritonale souillés	lait dans l'estomac, foie marbré, décoloration et transparence G	0	congestion du lobé médiol droit, de couleur violacée, hépatose	0	taille intégale	reins, pétéches, rein allongé et bouleversé, G	0			négatif			idem mais moins sévère, petits foyers hémorragiques	idem avec foyers de nécrose et bactéries, réseau fibroblastique	congestion	Bronchopneumonie très sévère : chiot mort d'asphyxie		
	7	1	B2001	bon état général, tête mais ne grossit pas, diarrhée stoppée avec du Feliway, morte au bout de 6 chiots dont 5		nez et région péritonale souillés	nez et région péritonale souillés	lait dans la cavité buccale	0	congestion des sécrétions de l'estomac, très distendu par une	coeur légèrement congestif	congestion	petiches, 1 grande plage de décoloration sur	congestion	merlingue importante						gastro-entéroite, nécrose, parénchyme et pneumonie fibrino-nécrotiques et suppurées subaiguës modérées avec bactéries intersticielles	0	0	Thymus : 0	Histo : septième suraiguë à partir d'un foyer bactérien à point de départ digestif. Autops : Bronchopneumonie par fausse
shi tzu	7	?	ST1610	mort sur plusieurs portées due à la penicilline (dans la cavité abdominale) au cours de la première semaine de vie, après accouplement et accouchement		0	congestion générale de la cavité abdominale	congestion générale de la cavité thoracique, signes	0		0	0	0							congestion, inflammation subaiguë	congestion de la médullaire	congestion sévère des villosités, infiltration cellulaire +	ménierges très congestifs	pas de diagnostic	
cocker	3	?	CO402-1	forte mortalité néonatale sans symptôme (4 chiots sur 6)		hyperpigmentation des coussinets	0	0	0		0	0	0							congestion, foyers d'hématopoïèse, absence totale d'organisations au sein du parenchyme, macro-hématomes	quelques cellules nécrosées à l'intérieur des cryptes	0	0	pas de diagnostic	
		?	CO402-2	mort suraiguë avec douleur abdominale, leoux, raidissement du rachis et convulsions		0	0	0	0	0	0	0	0							congestion, pneumonie interstitielle subaiguë + alvéolaire aiguë, quelques foyers hémorragiques	0	0			
cavalier king charles	70	2	CKC0706-1	mort suraiguë avec douleur abdominale, leoux, raidissement du rachis et convulsions		0	légère congestion intestinale	0	0	0	0	négatif	négatif						sténose parabolaire marquée	discret liquide d'œdème dans les alvéoles	0	0	Pancréas : 0		
cavalier king charles	4	1	CK2306	plainte (douleur abdominale ?), hypothermie (< 35°C), diarrhée sanglante ou jaune		région péritonale souillée	contenu digestif liquide	0	0	0	légère congestion mixée									œdème péritonéal, septa interpélviens	0	0		hépatite nécrosante multifocale	
		2	CKC1801-1	mort suraiguë avec douleur abdominale, leoux, morte dans les 24h après perte de poids, signes généraux (se déplacent sur le flanc), respiratoires (étouffement) et digestifs (rétrousses). Mère multigravide		diarrhée hémorragique, congestion des extrémités de la langue, abdome	intestin, décoloration à la décoloration, fuite de liquide d'ascite	légère congestion pulmonaire	rate légèrement congestivé	décoloration globale des 2 reins, 1 page sombre	autolyse									congestion, petits foyers hémorragiques complètement lysés, entière	amas de coques dans les capillaires sanguins	amas de coques dans les capillaires sanguins	nombreux amas de coques dans les capillaires sanguins	Thymus : absence de lésion histologique	Septicémie bactérienne à coques Gram+ ayant une probable origine digestive
		2	CKC1801-2	mort suraiguë avec douleur abdominale, leoux, morte dans les 24h après perte de poids, signes généraux (se déplacent sur le flanc), respiratoires (étouffement) et digestifs (rétrousses). Mère multigravide		diarrhée, nécrose de l'extrémité de la langue, abdome	légère congestion pulmonaire, séro-hémorragique, perte d'énergie	0	rate modérément autolysee	rein D légèrement hypertrophique et bosselé, décoloration	légère congestion									amas de coques dans les capillaires sanguins	amas de coques dans les capillaires sanguins	amas de coques dans les capillaires sanguins	amas de coques dans les capillaires sanguins	Pancréas : amas de coques dans les capillaires sanguins	Gram+ ayant une probable origine digestive
cavalier king charles	1	2	CKC1610-1	forte mortalité néonatale sans symptôme (3 chiots sur 5)		estomac vide et de petite taille	congestion pulmonaire massive, test de flottaison positif	0	0	0									congestion, quelques foyers de cellules à l'heure modérée	congestion, petits foyers hémorragiques	0	0	pas de diagnostic		
		1	CKC1610-2	mort suraiguë avec douleur abdominale, leoux, morte dans les 24h après perte de poids, signes généraux (se déplacent sur le flanc), respiratoires (étouffement) et digestifs (rétrousses). Mère multigravide		estomac vide et de petite taille	congestion pulmonaire massive, test de flottaison	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	explosion de septes et décoloration au niveau des gaines de myéline (distordues)	Thymus : morte à un syndrome de dépréhension (non confirmé à l'histo)	
bouledogue français	35	?	BF2802	aménorrhée, diarrhée, anorexie et douleur abdominale, mort au bout de 10 jours		cairé abdominal, cairé ouvert, traces de vomissements au niveau des voies respiratoires	lobes pulmonaires gauches décolorés, emphysème	0	0	0	positif cerveau + intestin	positif								surcharge biliaire, stase des sinusoides et cellules	pupe blanche bien développée avec follicules secondaires	0	0	0	Panovirose avec surinfection par un coronavirus pantropique
bulldog	21	?	BA1609	mort suraiguë avec douleur abdominale, hypothermie, érythème cutané et partie ventrale de abdomen, chiot non vacciné, mort en quelques heures de symptomatologie, mortalité nulle dans l'ensemble		jetage bilatéral	0	sevère hépatite pulmonaire	0	0	0	négatif							congestion, foyers hémorragiques	érosion de la chondrite, laceration de la gencive, décoloration	0	0		possible origine bactérienne	
spitz	49	1	SM	mort suraiguë avec douleur abdominale, diarrhée, anorexie et douleur abdominale, mort au bout de 10 jours		0	décoloration hépatique	congestion majeure du poumon gauche ; hématose	0	0	0	positif dans le foie	positif						sténose micro-occlusive difficile à éliminer (à l'hist)	quelques images de nécrose discrète de la pulpe blanche	0	0	0	Panovirose avec surinfection par un coronavirus pantropique	
berger de beaume	0	1	BB1610	chiot unique né par césarienne (pas dans l'autre comé), faible et difficile respiratoire		liquide sanguin dans les intestins, liquide séro-sanguin	0	0	0	congestion cérébrale									mauvaise conservation, infiltrat inflammatoire	infiltration de grandes cellules à cytoplasme et eosinophiles	0	0	0	peau : hématome pénitesculaire, œdème pénitesculaire	
léonberg	3	1	L1407	mort suraiguë avec douleur abdominale, hypothermie, diarrhée, mort au bout de 10 jours		0	épanchement sanguin dans le péritoneum et les coupoles	emphysème pulmonaire en périphérie des coupoles	0	0	0					< 0		hématome et pétéchie nécrosante et hématomate	prédominance nécrosante multifocale modérée avec	0	0	0	Thymus : 0	Hépatite nécrosante et hématomate secondaire à une septicémie à point de départ digestif	
labrador	3	1	L1805	anorexie et ictere ; circulation Herpès/Panovirose dans l'élevage, introduction de reproducteurs sans		ictère ++	congestion pulmonaire, autolyse ++	autolyse ++	autolyse ++	autolyse ++	0	négatif							congestion sévère, hépatite aigüe, pigments biliaires-tétracycliques	amas de cellules épithéliales à la jonction cortico-médullaire	congestion	0		pas de diagnostic	

Annexe 5 : Tableau bilan des lots 1 et 2 (2^{ème} partie)

COMMÉMORATIFS					RAPPORT D'AUTOPSIE						RESULTATS						LESIONS HISTO						BILAN				
race	age (en jours)	sexe (1 = male; 2 = female)	identificatio n	signes cliniques observés	examen externe	appareil digestif	appareil respiratoire	appareil circulatoire	appareil urinaire	système nerveux central	myco	CPV1	Corona	parvo	herpès	rubarth	autre	foie	rate	rein	Intestin	Poumons	Cœur	Cerveau	Pièce anatomique particulière		
cocker anglais	0	2	CA1704-1	portée de 3 chiots tous décédés avant 24h avec signes cliniques non spécifiques (faiblesse générale, gémissements), mère vaccinée et vermifugée ; troubles identiques sur plusieurs portées, PCR hépés sur 1 lice négatif	chiot de grande taille, écoulement séréux bilatéral à la pression des	0	0	0	persistante du canal de l'Ouraque, absence de rein	encéphale autolyse																lesions compatibles avec une septicémie	
	1	1	CA1704-2		chiot de petite taille	0	atelectasie	0	persistante du canal de l'Ouraque, reins de consistance	encéphale autolyse (probable défaut de consommation)																	
		1	CA1704-3		chiot de très petite taille	0	0	0	rein de petite taille, induré, non délimitation de la jonction	encéphale autolyse																	
chow chow	11	2	CC2911	FPS : portée de 7 chiots dont 2 mort-nés et 2 ayant 8 jours ; mortalité au sein des portées issues du soin des portées issues du	présence d'une puce, 5 doigts aux postérieurs	suc gastrique en grande quantité dans l'estomac	empyéma, congestion multifocale, liquide muqueux	0	négatif					négatif				Bactériologie : encéphale < 0 thorax : Staph.	hématopoïèse modérée	hématopoïèse modérée	rein immature	tube digestif immature	bronchopneumonie et suppurée multifocale aiguë avec fongitoxine	0	0	NL mésoentérique : hyperplasie modérée Thymus atrophié	Bronchopneumonie par inhalation de matériel étranger, suite à affaiblissement important mais de cause inconnue
berger blanc suisse	0	2	BBS1905-1	portée de 5 chiots dont 4 mort-nés, mère primipare ayant reçu une seule vaccination Herpès le jour de la naissance + 1 injection CHPIL	coton très rempli, liséré jaune long du lobe caudal droit du sinus	0	0	rein droit décoloré par plages	0										0							hyp : 1) origine infectieuse 2) avortement tardif par insuffisance lutéale 3) inertié utérine primaire	
		1	BBS1905-2	troubles dans l'élevage : 3/4 saillies infarctuées	liquide séro-hémorragique à la pression des sinus	coton très rempli, liséré jaune sur lobe caudal droit du sinus	0	0	rein droit décoloré par plages	0								congestion	0	atélectasie non totale, congestion, léger infiltrat	congestion	congestion	congestion	congestion			
bulldog	2	?	B0502	portée de 7 chiots nés par césarienne, 6 morts dans les 2 premières journées après FPS et râleur : mère non	estomac rempli, liséré jaune au bord caudal gauche, test de flottaison négatif	congestion du lobe caudal gauche, test de flottaison négatif	0	rein d'aspect extérieur normal, médullaire sombre à la	0	négatif			négatif					hématopoïèse extra-médullaire ; dégénérescence hyalinoïde diffuse		rein immature	tube digestif immature : pneumonie/pleuréie et hémorragie multifocale avec hémorragique et				septicémie bactérienne primitive (pneumonie, omphalopéritérite, perforation abdominale...) ou transmise par la mère (mammité)		
west highland white terrier	61	1	WHWVT001	troubles digestifs, pas de signe clinique sur la mère et le reste de la portée, et les restes digestifs et fécales jaunes	régin pénitale souillée (matières et fécales jaunes)	0	0	0	0			positif	positif					0		0	quelques cellules nécrosées à l'intérieur des cryptes, villosités	congestion, œdème alvéolaire, pneumonie interstitielle peu	0	0		Panvirose	
yorkshire terrier	64	1	YT2901	absence de défécation, mort en 24h, circulation de sang depuis juillet 2008, mortalité cœsopho-surrénale	0	0	lésions en damier	0	0		positif dans les fèces uniquement	positif						légère congestion		pétéchies, 1 foyer de calcification	nérose focale des extrémités des queues	brondrite subaiguë bactérienne	0	0	Peau : absence de lésion	Parvirose avec surinfection par un coronavirus entérique	
bichon frisé	48	2	BF1102		0	0	poumon rouge vif, sang +++ à la coupe	0	0	0		négatif	positif					stase, stéatose et hépatite modérées		présence de villosités foetaux	présence de villosités, quelques	pneumonie interstitielle et alvéolaire	0			Panvirose	
2 chiots	42	?	chids2906	cécité, troubles respiratoires, hypothermie, coma et	hépatomégalie avec décoloration et	congestion pulmonaire	0	0	0								négatif	surcharge glycogénolipidique modérée	colonies bactériennes	colonies bactériennes	colonies bactériennes				bactériémie/septicémie		
boxer	6	2	B2907	portée de 10 chiots morts avant 7 jours après affaiblissement, déshydratation	0	0	liquide blanchâtre dans la trachée, coques planchères de	0	0									stéatose et congestion		0	muqueuse superficielle disparaît, pas d'œdème ni de	0	congestion	Thymus : dégénérescence (corpuscules de Hassall)	atteinte respiratoire d'origine bactérienne		
bulldog	0	?	BT1011	exulté à 50 jours, autres chiots ok, chienne BEG ; césarienne d'urgence à terme car plusieurs chiots	0	0	érythème cutané important sur la face et une partie du cou	0	0	0								loyers d'hématopoïèse (normal au stade foetal)		0	0	0	0	Peau : hémorragie superficielle, congestion,	pas de diagnostic		
cocker anglais	42	1	CA1506	anorexie, déhydratation, diarrhée/vomissements,	0	décoloration de l'intestin grêle, hypertrrophie	congestion pulmonaire localisée	0	0	0		charge virale faible					0	0	0	0	0	0	0	pancrèas, troisième paupière,	Panvirose		
cocker anglais	73	1	CA0904	diarrhée hémorragique, anorexie et prostration sur toute la portée ;	diarrhée	estomac rempli, décoloration foie en	crépitations pulmonaires à la palpation, test	0	capsule légèrement décollée sur le	0	positif rate + fèces + intestin	positif					0	0	0	0	0	0	0		Panvirose avec surinfection par un coronavirus pantropic		
setter gordon	55	2	SG0904	portée de 10 chiots présentant à partir d'1mois/1/2 troubles	0	beaucoup d'air dans l'estomac, lobe caudal droit	liquide séro-hémorragique	congestion splénique	pâleur rénale	congestion									0	0	0	0	0			Panvirose	
colley	7	1	C1603-1	portée de 4 chiots, morts avant 7 jours. Pas de prise du colostrum.	lait dans la cavité buccale	lait en grande quantité dans l'estomac, en petite	congestion	pâleur rénale	congestion																	CIVD probablement secondaire à un choc septique (foyer indéterminé)	
berger allemand	3	2	BA1301-1	portée de 5 chiots dont 1 mort-né et 1 au bout de 3 jours après déshydratation rapide et biberonnage (rejet par le nez)	présence de lait autour de la truffe, déshydratation	estomac distendu (3ml de lait), décoloration et	congestion, emphyseme, 1 peau de la truffe à la palpation et dans la	0	très sombres à la coupe	congestion								congestion, atrophie des travées hépatocytaires, dégénérescence hépatocytaires centrolobulaires		0	0	0	0	congestion, œdème, macrophages alvéolaires, exsudation fibrineuse	cardioméglie globale (amincissement pari V/G)		
		2	BA1301-2		déshydratation (issu sous-cutané collant)	estomac petit, distension aérique et congestion IG (liseré jaune au	congestion, emphyseme, liquide	0	reins décolorés, rein G boursouflé	congestion																Cardiomyopathie dilatée	

Annexe 6 : Tableau bilan du lot 3

ANAMNESE						RAPPORT D'AUTOPSIE					RESULTATS			BILAN	
ID chiot	age	délai autops	race	sexé	signes cliniques observés	examen externe	appareil digestif	appareil respi	appareil circu	appareil urinaire	système nerveux central	histo	Corona	parvo	
85H	> 15	5	croisé cocker-golden				foie décoloré par marbrures, liseré jaune au	plages sombres sur les poumons, test				foie/rein/encéphale : RAS autolyse	positif dans les selles et l'intestin	organes positifs	parvovirose avec surinfection par un coronavirus
64X	> 15	5	bichon maltais	1			foie décoloré par marbrures	plages sombres sur les poumons, lobe				foie/rein/encéphale : RAS autolyse	positif dans les selles seulement	organes positifs sauf rein	parvovirose avec surinfection par un coronavirus
63B	> 15	6	golden	2			foie décoloré par marbrures	plages sombres sur les poumons, test				foie/rein/cœur/encéphale : RAS autolyse	positif dans les selles seulement	organes positifs	parvovirose avec surinfection par un coronavirus
44	42	3				0	décoloration globale du foie, un peu	30mL de liquide séro-hémorragique à	0	0	0	cœur/rein/poumon/foie/rate : RAS ; entérite	positif dans la rate	organes positifs	Parvovirose avec surinfection par un coronavirus
43	> 15	4			diarrhée/vomis sements, mort subite	0	début de l'IG jaunâtre, décoloration	quelques zones hémorragiques sur le poumon	0	rein droit hypertrophié, de couleur et	0	cœur/rein/foie/poumon : RAS ; nécrose de la	positif dans poumon + intestin	organes positifs	Parvovirose avec surinfection par un coronavirus
30	6	7	shi tsu		ventre bleu, s'urine dessus +++	0	selles pâteuses dans l'intestin	0	0	0	0	cœur/rein : RAS légère pneumonie			suspicion de septicémie
chiot ber	9		lhassa apso	?	portée de 5 chiots, tous atteints de	0	0	0	0	0	congestion cérébrale très sévère	méningite et congestion, hépatite et			pas de diagnostic
chiot pate	3		golden	2	portée de 11 chiots dont 9 morts dans les	0	lésions blanchâtres multifocales	0	0	0	0	hépatite et congestion et bact,	négatif	organes positifs	Infection bactérienne systémique
chiot F	44		bichon frisé		vacciné Parvo le 12/01/10 Vanguar CPV,							cœur/foie : RAS méningo-encéphalite	positif selles + intestin	organes positifs	Parvovirose avec surinfection par un coronavirus
T1712	18	3	teckel		portée de 7 chiots, tous syndrome de	0	infarcissement hépatique, sang en nature	poumon gauche en partie congestionné	0	reins en partie décolorés	0	pneumonie, atélectasie et emphysème,			phénomène inflammatoire systémique
BF2804	> 15		bichon frisé	2	mortalité aiguë après vomissements/	chiot maigre, face souillée par les	selles pâteuses non formées	congestion multifocale	présence de structures d'aspect	0	0	entérite subaiguë discrète et	positif dans les selles seulement	organes positifs	parvovirose avec surinfection par un coronavirus
croisé jack femelle	42		croisé jack	2	mortalité suraiguë, vaccin	région périréale souillée, selles	contenu intestinal liquide (séro-lipidose hépatique, pétéchies sur	poumons "spumeux", crépitations	0	0	légère congestion des vaisseaux de	hémorragies rein, stéatose hépatique	positif dans l'intestin seulement	positif dans tous les organes	parvovirose
croisé jack mâle	42		croisé jack	1	signes neurologiques (faiblesses,	chiot un peu maigre						cœur/poumon : RAS stéatose hépatique	positif dans l'intestin seulement	positif foie + rate + intestin	parvovirose
gold R	> 15	8	golden		même portée	traces de diarrhée	organes putréfiés					autolyse complète de la muqueuse IG, organes (foie, intestin) autolysés,	positif dans les selles et l'intestin	organes positifs sauf intestin	parvovirose avec surinfection par un coronavirus
gold 699	> 15	5	golden	1	même portée	traces de diarrhée	organes putréfiés					positif dans les selles et l'intestin	positif dans le foie et les selles	parvovirose avec surinfection par un coronavirus	

Annexe 7 : Races des chiots inclus dans l'étude

Berger allemand : 1
Berger blanc suisse : 1
Berger de Beauce : 1
Bichon frisé : 3
Bichon maltais : 1
Bouledogue français : 2
Boxer : 4
Bulldog : 2
Bull Terrier : 1
Cavalier King Charles : 4
Chow Chow : 1
Cocker anglais : 4
Colley : 1
Golden retriever : 4
Labrador retriever : 1
Léonberg : 1
Lhassa Apso : 1
Setter Gordon : 1
Shi Tzu : 2
Spitz : 1
Teckel : 1
West Highland White Terrier : 1
Yorkshire Terrier : 1

Croisé : 3
Inconnu : 3

Annexe 8 : Abstract présenté au congrès de l'EVSSAR en mars 2011

Interest of histopathology in the investigation of mortality in puppies

C. Boogaerts¹, B. Molle-Proudhon, N. Antoine², D. Grandjean¹ and A. Grellet¹

¹UMES, ²ULG

Alfort Veterinary College, France. E-mail : cboogaerts@vet-alfort.fr

Introduction. Puppy mortality has a great impact on the breeding program of breeders. In the first weeks of life, the mortality reaches around 20% according to different studies. It decreased after the age of 21 days. Multiples causes, infectious or not, are involved in this mortality. They are often difficult to diagnose, especially at a very young age. Therefore histopathology may help to find out these causes. In the past few years, very few studies have been published concerning the use of histopathology to investigate the causes of mortality in puppies¹. Histopathology seemed to be a useful method to characterize lesions but the data collected only concerned one breed. The aim of the study was to evaluate how the interest of histopathology to diagnose the causes of mortality in puppies.

Materials and methods. Puppies of different breeds were sent to the Breeding and Sport Medicine Unit (UMES) for necropsy. For each puppy, information concerning the clinical signs and possible treatments, the litter were collected and a necropsy was performed. Tissue samples from liver, kidney, intestine, spleen, lung, heart, brain and thymus were systematically collected for histopathology investigation. Histopathological results were then compared to the macroscopic signs observed during the necropsy.

Results. A total of 34 puppies were included in the study. 59 % (20/34) were aged between 1 and 21 days, 32 % (11/34) were aged between 22 and 61 days. Age was not recorded for 9% (3/34) of the puppies. In 31/34 puppies, histopathologic lesions were observed. In 15 puppies, no macroscopic lesions were observed. Neither macroscopic nor histopathologic lesions were observed in 2 puppies. In the 20 puppies younger than 3 weeks, 7 presented histopathologic lesions of septicaemia and 5 presented lesions of bronchopneumonia or pneumonia. In the 11 older puppies or more, 8 puppies presented necrosis of the intestinal villi. No diagnosis could have been done in 7 cases whereas microscopic lesions were found.

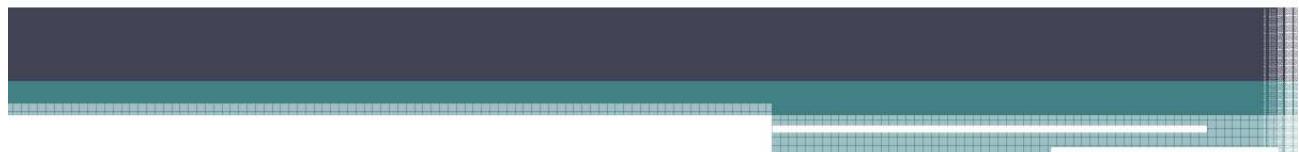
Discussion. In this study, age does not seem to influence the possibility of observation of macroscopic lesions. Bacterial infections seem to be the major cause of neonatal mortality. This suspicion was not confirmed by bacteriology because of the delay between death and necropsy. These findings can lead to general recommendations concerning the care of newborns such as thorough cleaning and disinfection in the nest and an appropriate temperature to protect puppies against hypothermia. After 3 weeks of age, intestinal lesions were observed in 7 puppies. These lesions were compatible with a parvovirosis. These results were confirmed with real time PCR and a high level of parvovirus was detected in those puppies. It can be linked to the high resistance of the virus in the environment. This disease is a recurrent problem in puppies living in kennel. Breeders still need to be trained concerning the environment management. Other infectious disease are less often highlighted thank to the regular vaccination and the better breeding conditions.

Conclusion. This study allows considering histopathology as an interesting test to investigate causes of mortality in puppies.

References

¹ A. L. J. Nielen, I. van der Gaag, B. W. Knol, et al. Investigation of mortality and pathological changes in a 14 month birth cohort of boxer puppies. Veterinary Record 1998, 142 : 602-606.

Annexe 9 : Poster présenté au congrès de l'EVSSAR en mars 2011



Interest of histopathology in the investigation of mortality in puppies



C. Boogaerts¹, B. Molle-Proudhon, D. Cassart², N. Antoine², C. Boucher³, D. Grandjean¹ and A. Grellet¹



¹ UMES, Alfort Veterinary College, France. E-mail : cboogaerts@vet-alfort.fr

² Department of Morphology-Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Belgium.

³ Technical services, pro market, Royal Canin, France.



INTRODUCTION

Puppy mortality has a great impact on the breeding program of breeders. In the first weeks of life, the mortality reaches around 20% according to different studies. It decreased after the age of 21 days. Multiple causes, infectious or not, can be responsible for this neonatal and pediatric mortality. They are often difficult to diagnose, especially at a very young age. In the past years, very few studies have been published concerning the use of histopathology to investigate the causes of mortality in puppies¹. Histopathology seemed to be a useful method to characterize lesions but the data collected concerned only one breed².

So the aim of the study was to evaluate the interest of histopathology in the diagnosis of mortality in puppies.

MATERIAL & METHODS

Puppies of different breeds were sent to the Breeding and Sport Medicine Unit (UMES) for necropsy. For each puppy, information concerning the litter, the clinical signs and possible treatments were collected and a necropsy was performed. Tissue samples from liver, kidney, intestine, spleen, lung, heart, brain and thymus were systematically collected for histopathology investigation. Histopathological results were then compared to the macroscopic signs observed during the necropsy.

RESULTS

44 puppies were included in the study. 73 % (32/44) were aged between 1 and 21 days and 27 % (12/44) were aged between 22 and 61 days. The correlation between macroscopic and histopathological lesions is presented in table 1.

Number of puppies	Repartition	Macroscopic and histopathological lesions	Only macroscopic lesions	Only histopathological lesions	Neither macroscopic nor histopathological lesion
44	32 aged ≤ 21 days	22	0	9	1
	12 aged > 22 days	4	2	6	0

Table 1 : Correlation between macroscopic and histopathological lesions

No diagnosis was determined in 7 cases even if microscopic lesions were found.

In the 32 puppies younger than 3 weeks, 12 presented histopathological lesions of septicaemia, 7 presented lesions of broncho-pneumonia or pneumonia. Lesions of multifocal necrocytic hepatitis, hypoxia and dilated cardiomyopathy were each found in one puppy. In the 9 older puppies, 7 presented necrosis of the intestinal villi and 1 puppy had also lesions of pneumonia. Lesions of septicaemia and meningitis were each found in one puppy.



Fig 1 : Enteritis in a weaning puppy



Fig 2 : Bronchopneumonia in a 15 days old puppy



Fig 3 : Subacute interstitial pneumonia in a 1 day old puppy

DISCUSSION

In this study, age does not seem to influence the possibility to observe macroscopic lesions. Bacterial infections seem to be the major cause of neonatal mortality. This suspicion was not confirmed by bacteriology because of the delay between death and necropsy. These findings can lead to general recommendations concerning the care of newborns such as thorough cleaning and disinfection in the nest and an appropriate temperature to protect puppies against hypothermia.

After 3 weeks of age, intestinal lesions were observed in 7 puppies. These lesions were compatible with a parvovirosis (necrosis of the villi). These results were confirmed with real time PCR detecting a high level of parvovirus in those puppies. This disease is a recurrent problem in puppies living in kennel. It can be linked to the high resistance of the virus in the environment. Breeders still need to be trained concerning the environment management. Other infectious diseases are less often highlighted thanks to the regular vaccination and the better breeding conditions.

CONCLUSION

This study allows us to consider histopathology as an interesting test to investigate causes of mortality in puppies. In our study, bacterial diseases seem to be a major cause of death in very young puppies whereas viral diseases are mainly found in weaning puppies.

REFERENCE

¹ A. L. J. Nielsen, I. van der Gaag, B. W. Knol, et al. Investigation of mortality and pathological changes in a 14 month birth cohort of boxer puppies. Veterinary Record 1998, 142 : 602-606.

APPORT DE L'HISTOPATHOLOGIE AU DIAGNOSTIC DE MORTALITÉ NÉONATALE ET PÉDIATRIQUE CHEZ LE CHIEN

NOM et Prénom : MOLLE-PROUDHON Bérengère

Résumé :

La mortalité néonatale et pédiatrique en élevage canin, voisine de 30 à 35%, est source de pertes économiques importantes et justifie des investigations de la part du vétérinaire. La petite taille et l'immaturité des animaux limitent considérablement les possibilités sémiologiques, et la symptomatologie fruste est souvent commune à différentes causes, infectieuses ou non.

L'étude menée ici à l'UMES (Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport), en partenariat avec la société Royal Canin, vise à explorer les atouts et les limites de l'histopathologie comme aide au diagnostic de mortalité chez le chiot.

Entre juin 2009 et mars 2011, 46 chiots âgés de moins de 75 jours ont été analysés. Pour cela, une autopsie a été réalisée, ainsi que des prélèvements d'organes (rate, foie, rein, intestin, cœur, poumon, cerveau) et leur analyse par un laboratoire d'histopathologie, à la recherche de signes permettant de conclure à la cause de la mort ou orienter une suspicion.

Les causes de mortalité rencontrées au cours de cette étude étaient de nature infectieuse (68%) ou non infectieuse (12%), avec absence de diagnostic dans 20% des cas. L'examen histopathologique a permis d'aboutir à un diagnostic étiologique dans 43% des cas, et dans 7% des cas de soulever des hypothèses. Dans les 50% de cas restant, en revanche, l'histopathologie n'a pas permis de mettre en évidence l'origine de la mortalité, ou de confirmer les résultats d'autres examens de laboratoire. Dans cette étude, l'âge du chiot n'est pas un facteur lié à l'établissement du diagnostic à partir de l'examen histopathologique. En revanche, l'expression de signes cliniques avant la mort et la présence de lésions macroscopiques à l'autopsie sont liés à l'établissement du diagnostic à partir de l'examen histopathologiques.

L'histopathologie est un examen précis et minutieux qui peut apporter des informations précieuses mais on peut facilement passer à côté par manque de rigueur. Il convient donc, afin d'optimiser les chances de résultat, de respecter les bonnes pratiques d'autopsie et d'échantillonnage.

Mots clés : MORTALITE, NEONATALOGIE, PEDIATRIE, ELEVAGE CANIN, DIAGNOSTIC, HISTOPATHOLOGIE, AUTOPSIE, EXAMEN DE LABORATOIRE, CARNIVORE, CHIEN, CHIOT, UMES

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr. Dominique GRANDJEAN

Assesseur : Pr. Bénédicte GRIMARD- BALLIF

CONTRIBUTION OF HISTOPATHOLOGY TO THE DIAGNOSIS OF NEONATAL AND PEDIATRIC DEATH IN BREDDING KENNEL

NAME and Surname : MOLLE-PROUDHON Bérengère

Summary :

Neonatal and pediatric death in breeding kennels rises up to 30 to 35% and is responsible for major economic loss. Investigation is thus warranted. Since neonatal animals are small and immature, semiology is limited and the symptoms expressed before death are often inconspicuous and common to different infectious and non-infectious causes.

The study performed at the Sport and Stud Medicine Unit (UMES), in collaboration with Royal Canin, aims at highlighting the benefits and limits of histopathology to diagnose the cause of mortality in puppies.

46 puppies aged of less than 75 days were analyzed from June 2009 to March 2011. For each puppy, an autopsy was performed and organs sampled (spleen, liver, kidney, small intestine, heart, lung, brain) and then analyzed by an histopathology laboratory, looking for signs leading to a diagnosis or a suspicion.

In this study, causes of death were either infectious (68%) or non-infectious (12%), and no diagnostic was found in 20% of cases. Histopathology led to an etiologic diagnosis in 43% of cases, and brought suspicion in 7% of cases. Nevertheless, for the remaining 50%, histopathology neither led to a diagnosis nor corroborated other laboratory examinations. In this study, the puppy's age doesn't interfere with the result of histopathologic examination. However, clinical signs before death and macroscopic lesions discovered during the autopsy are linked to better histopathological results.

Histopathology is an accurate and meticulous examination which can bring precious information ; but one can easily miss it by lack of rigor. The best results will be obtained by scrupulously conforming to the rules of autopsy and sampling.

Keywords : MORTALITY, NEONATOLOGY, PEDIATRIC, BREEDING KENNEL, DIAGNOSIS, HISTOPATHOLOGY, AUTOPSY, LABORATORY EXAMINATION, CARNIVOROUS, DOG, PUPPY, UMES

Jury :

President : Pr.

Director : Pr. Dominique GRANDJEAN

Assessor : Pr. Bénédicte GRIMARD-BALLIF