

<b>Introduction</b> .....	7
<b>Partie 1 - Réalisation du lavage transtrachéal</b> .....	8
<b><u>1/ Indications du lavage transtrachéal</u></b> .....	8
<b><u>2/ Réalisation du lavage transtrachéal</u></b> .....	9
a/ Quelques rappels d'anatomie.....	9
b/ Principes du lavage transtrachéal.....	9
c/ Préparation du lavage transtrachéal.....	10
➔ <b>MATERIEL</b> .....	10
➔ <b>TRANQUILLISATION</b> .....	11
➔ <b>PREPARATION</b> .....	11
d/ Réalisation du lavage transtrachéal.....	12
➔ <b>PONCTION</b> .....	12
➔ <b>LAVAGE</b> .....	14
e/ Traitement des prélèvements.....	18
<b><u>3/ Complications et contre-indications</u></b> .....	20
a/ Complications.....	20
b/ Contre-indications.....	21
<b><u>4/ Inconvénients et avantages du lavage transtrachéal</u></b> .....	21
<b>PARTIE 2 - Examen microscopique</b> .....	23
<b><u>1/ Qualité du frottis</u></b> .....	23
a/ Fond du frottis.....	24
➔ <b>MUCUS</b> .....	24
➔ <b>AUTRES ELEMENTS</b> .....	24
b/ Contamination oro-pharyngée.....	25
c/ Lavage trachéo-bronchique versus lavage broncho-alvéolaire.....	25
<b><u>2/ Différents types de cellules</u></b> .....	26
a/ Cellules épithéliales.....	26
b/ Les macrophages alvéolaires.....	26
c/ Les cellules inflammatoires.....	29
➔ <b>POLYNUCLEAIRES NEUTROPHILES</b> .....	29

➔ POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES.....	29
➔ MASTOCYTES.....	31
d/ Les cellules de l'immunité : les lymphocytes.....	31
<b><u>3/ Comptages cellulaires</u></b> .....	32
a/ Comptage total.....	32
b/ Comptage différentiel.....	34
<b>PARTIE 3 - Interprétation cytologique</b> .....	36
<b><u>1/ Phénomènes inflammatoires</u></b> .....	36
a/ Inflammation neutrophilique.....	36
1. Phénomène non septique.....	36
2. Phénomène septique.....	37
➔ ASPECT CYTOLOGIQUE.....	37
➔ INTERPRETATION.....	38
➔ AGENTS ETIOLOGIQUES.....	39
b/ Inflammation granulomateuse (macrophagique).....	40
➔ ASPECT CYTOLOGIQUE.....	40
➔ INTERPRETATION.....	41
c/ Réaction lymphocytaire.....	42
➔ ASPECT CYTOLOGIQUE.....	42
➔ INTERPRETATION.....	42
d/ Altérations inflammatoires des cellules épithéliales.....	43
➔ ASPECT CYTOLOGIQUE.....	43
➔ INTERPRETATION.....	44
<b><u>2/ Réactions d'hypersensibilité</u></b> .....	44
➔ ASPECT CYTOLOGIQUE.....	44
➔ INTERPRETATION.....	44
➔ AGENTS ETIOLOGIQUES.....	46
<b><u>3/ Hémorragie pulmonaire</u></b> .....	48
➔ ASPECT CYTOLOGIQUE.....	48
➔ ETIOLOGIE.....	48
<b><u>4/ Phénomène tumoral</u></b> .....	49
a/ Tumeurs épithéliales primitives et métastatiques.....	49
➔ ASPECT CYTOLOGIQUE.....	50

➔ CONSEQUENCES.....	50
b/ Lymphome.....	51
➔ ASPECT CYTOLOGIQUE.....	52
➔ CONSEQUENCES.....	52
c/ Autres manifestations tumorales.....	53
<b>Partie 4 - Conclusion partielle.....</b>	<b>54</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>56</b>

## Introduction

Chez le chien, les troubles respiratoires représentent un motif très fréquent de consultation en médecine vétérinaire. Si la plupart d'entre eux ne posent pas vraiment de problème diagnostique (qu'il s'agisse d'atteinte des voies hautes aisément décelables par un examen clinique ou de troubles aigus répondant bien à une thérapeutique symptomatique), des difficultés peuvent être rencontrées pour les affections chroniques et profondes (concernant la trachée intrathoracique, les bronches et bronchioles, les alvéoles et le parenchyme pulmonaire, peu accessibles à un examen direct) pour lesquelles il semblerait hasardeux de tenter un traitement empirique ou lors d'échecs thérapeutiques des affections profondes aiguës. Les radiographies du thorax représentent un bon moyen pour localiser ce type de lésions mais ne sont que rarement évocatrices des processus pathologiques impliqués. Il existe alors un examen complémentaire encore trop peu souvent pratiqué en clientèle vétérinaire

canine et qui serait susceptible d'étudier la nature même de ces affections respiratoires : il s'agit de l'examen cytologique du liquide de lavage trachéo-broncho-alvéolaire.

L'objectif de ce travail est de présenter la technique de prélèvement par ponction transtrachéale, l'étude des cellules ainsi récoltées et l'interprétation en terme de processus pathologiques. Il va également tenter de présenter les avantages et les limites de cet examen complémentaire et de cerner quelle est sa place dans une démarche diagnostique cohérente.

## **PARTIE 1 - Réalisation du lavage transtrachéal**

### **1 / Indications du lavage transtrachéal**

Tout d'abord, il est important de bien le situer dans la démarche diagnostique logique : cet acte doit être réalisé après un recueil soigné de l'anamnèse et des commémoratifs, après un examen clinique complet et après un certain nombre d'examens complémentaires comprenant des clichés radiographiques du thorax et des analyses de routine (hématologiques, biochimiques et urinaires). Idéalement, il est entrepris avant la mise en place d'un traitement spécifique, comme par exemple l'utilisation d'une antibiothérapie, car l'interprétation cytologique serait faussée même si des signes cliniques sont toujours décelables chez le patient traité (16 et 33).

Il est indiqué le plus souvent pour explorer les maladies de l'appareil respiratoire profond. En effet, il est à réaliser en première intention, afin d'obtenir des prélèvements pour analyse bactériologique chez les animaux suspects de phénomène infectieux broncho-pulmonaire (18) ; de même, les renseignements fournis par son interprétation cytologique sont extrêmement utiles dans deux cas de figure :

- En présence de signes cliniques manifestement liés à une maladie du tractus respiratoire : toux, dyspnée, (33), hypoxie, bruits respiratoires surajoutés, hémoptysie, intolérance à l'effort (28) et expectoration (16). Lorsque la toux est discrète et rare, éventuellement accompagnée de tachypnée, elle est plus souvent associée à une maladie pulmonaire interstitielle et le lavage transtrachéal est alors moins susceptible d'être diagnostique. Toutefois, étant donné qu'il s'agit d'un acte peu invasif, facile, rapide et peu onéreux, il est tout à fait justifié de l'entreprendre en présence de tout signe de maladie respiratoire profonde avant d'envisager d'autres moyens diagnostiques plus lourds et plus invasifs (33).
- En l'absence de signes respiratoires, en présence d'anomalies pulmonaires visibles sur des clichés radiographiques incitant à suspecter une maladie broncho-pulmonaire (images de comblement alvéolaire). Il est à noter que la présence d'une masse isolée, localisée contre la paroi thoracique est le seul cas de figure où il n'est pas judicieux d'entreprendre un lavage transtrachéal en première intention : l'examen de choix est alors la ponction transthoracique. (33).

Un certain nombre d'auteurs soulignent l'avantage essentiel de l'interprétation cytologique du liquide de lavage transtrachéal par rapport à l'imagerie médicale, en cas de suspicion de phénomène inflammatoire ; il permet, en effet, d'accéder facilement à une analyse plus fine des processus pathologiques mis en cause, en précisant si l'inflammation est plutôt de nature infectieuse, parasitaire, allergique ou tumorale (30).

De plus, le lavage transtrachéal est très utile en seconde intention devant l'échec d'un traitement de toux chronique et ce, après un sevrage médicamenteux adéquat (33).

Enfin, c'est un outil très pratique pour le suivi de l'évolution des processus pathologiques ou pour évaluer la réponse à un traitement (19).

## **2/ Réalisation du lavage transtrachéal**

### **a/ Quelques rappels d'anatomie**

Au départ du tractus respiratoire, se trouve le larynx qui fait suite au pharynx situé en arrière de la cavité buccale. Il peut être repéré par la palpation en région cervicale ventrale de deux proéminences, les cartilages thyroïdien et cricoïde. La trachée est un tube flexible qui prolonge le larynx jusque dans la cavité thoracique où elle se divise en deux bronches principales droite et gauche. Elle est composée de 37 à 46 anneaux incomplets de cartilage hyalin dont la partie dorsale est constituée de tissu conjonctif et du muscle lisse trachéal. Ces anneaux sont reliés entre eux par un tissu mixte collagénique et fibroélastique formant les ligaments trachéaux interannulaires.

Tout ceci constitue une structure à la fois souple et rigide qui permet des mouvements d'élongation et de flexion sans que la lumière ne soit déformée ou diminuée (43).

## **b/ Principe du lavage transtrachéal**

A l'origine, le lavage transtrachéal était pratiqué en médecine humaine pour obtenir des prélèvements des sécrétions respiratoires, afin d'en effectuer une analyse bactériologique, tout en évitant une contamination par la flore de la cavité buccale. Par la suite, cet acte a été adapté pour les carnivores domestiques et les examens microbiologiques et cytologiques qui en découlent ont été validés (4).

Ainsi, dès 1974, le lavage transtrachéal est adapté en médecine vétérinaire et présenté comme un outil intéressant qui nécessite une contention minimale et présente une bonne tolérance ; les patients humains ayant subi cet acte l'avaient décrit comme peu, voire pas douloureux (12).

Le principe peut ainsi être résumé : il s'agit de l'introduction d'une sonde directement dans la trachée et jusqu'à la bifurcation trachéo-bronchique, à travers le ligament crico-thyroïdien ou entre des anneaux trachéaux chez un animal vigile ou tranquilisé (16 et 33).

La plupart des auteurs soulignent la nécessité d'éviter tant que possible toute sédation, afin que l'animal conserve un bon réflexe de toux, nécessaire à la récolte du liquide (23 et 28).

Enfin, il faut bien garder à l'esprit que le lavage transtrachéal permet de récupérer des échantillons représentatifs des voies respiratoires mais peu spécifiques du parenchyme pulmonaire (28).

## **c/ Préparation du lavage transtrachéal**

### **➡ MATERIEL**

Deux types de dispositifs peuvent être utilisés :

- Un cathéter jugulaire et son aiguille de ponction : la tubulure est en général assez longue pour atteindre la bifurcation trachéo-bronchique (à peu près au niveau du quatrième espace intercostal) ; elle peut mesurer jusqu'à trente centimètres (douze pouces) ce qui est en général suffisant. Pour les races géantes, une technique de prélèvement entre deux anneaux trachéaux peut permettre de pallier une tubulure trop courte (33). Le diamètre de l'aiguille varie de 22 à 16 G, soit respectivement 0,7 à 1,7 mm, selon la taille du chien (la longueur du cathéter est de 12 pouces, soit à peu près 30 cm, pour un calibre de 16 G et de 8 pouces, soit environ 20 cm, pour le calibre 18 G), elle dispose d'une garde qui en limite la pénétration (39). Le cathéter possède également un mandrin métallique qui sert de guide.
- Un trocart court ou une aiguille hypodermique (calibre 14 G soit 2,1 mm) associé à une sonde urinaire pour chiens, en polyéthylène (calibre 2 à 3.5 F). Il est important de bien vérifier la compatibilité des calibres de l'ensemble trocart / sonde avant de l'utiliser (23).

Tout ce matériel doit être stérile.

Il est également important de prévoir :

- 4 à 6 seringues stériles de contenance 12 à 35 ml,
- un champ stérile pour y placer le matériel,
- du sérum physiologique chaud stérile,
- une paire de gants stériles,
- un anesthésique pour pratiquer une tranquillisation éventuelle (avec seringue et aiguille),
- du matériel pour préparer la zone de ponction (tondeuse, savon et solution antiseptiques, un anesthésique local avec seringue et aiguille).

Il est important de veiller à utiliser un soluté ne contenant aucun conservateur qui pourrait empêcher la réalisation d'une analyse bactériologique (4).

## ➔ TRANQUILLISATION

Il peut être nécessaire d'envisager une sédation chez des chiens hyperexcités dont la contention s'avère délicate (39) ou chez des animaux de très petit gabarit afin d'effectuer l'examen sans danger pour eux (12).

La tranquillisation ne doit pas altérer le réflexe de toux car cela compromettrait les chances de récupérer suffisamment de liquide. Les protocoles de sédations proposés sont les suivants (15):

- l'acépromazine seule (posologie de 0,03 à 0,1 mg/kg par voie intramusculaire ou intraveineuse)
- la kétamine éventuellement associée à la précédente si l'effet obtenu est insuffisant (1 à 2 mg/kg par voie intraveineuse)

## ➔ PREPARATION

Le site de ponction doit être préparé de manière chirurgicale et ceci est d'autant plus important que l'analyse cytologique du liquide de lavage transtrachéal est quasiment systématiquement doublée d'un examen bactériologique (4).

Le chien est placé en décubitus sternal ou en position assise, selon le confort du clinicien et de l'animal (33). Il est même possible de le laisser en décubitus latéral lorsque le processus pathologique est unilatéral, le côté atteint est alors contre la table (28). Son nez est orienté vers le haut selon un angle de 45° par rapport à l'horizontale ; il est important d'éviter toute hyperextension du cou qui pourrait rendre l'animal réticent à subir l'examen (33), provoquer une contamination oro-pharyngée (*un cas observé par R. L. COWELL, 11*) ou encore aggraver un problème respiratoire.

La région laryngée est tonduée et nettoyée chirurgicalement avec des substances antiseptiques iodées par exemple. L'opérateur revêt des gants stériles et peut repérer le site de ponction : en palpant la face ventrale de la trachée, il remonte jusqu'à sentir une zone en relief, lisse et étroite, le cartilage cricoïde. Il doit bien localiser les repères anatomiques de cette façon car, s'il manque d'expérience, il pourrait confondre le cartilage cricoïde avec le cartilage thyroïdien situé au-dessus, et réaliser sa ponction de façon trop crâniale en prenant le risque de léser des structures laryngées (les cordes vocales) ou de récupérer un prélèvement contaminé (33). Alternativement, le lavage a la possibilité d'être effectué entre deux anneaux trachéaux à peu près 1 à 3 cm en dessous du larynx, notamment chez les chiens de grand format (23) : cette technique présente l'avantage de diminuer le risque de lésions au niveau du larynx mais peut être à l'origine de fractures trachéales.

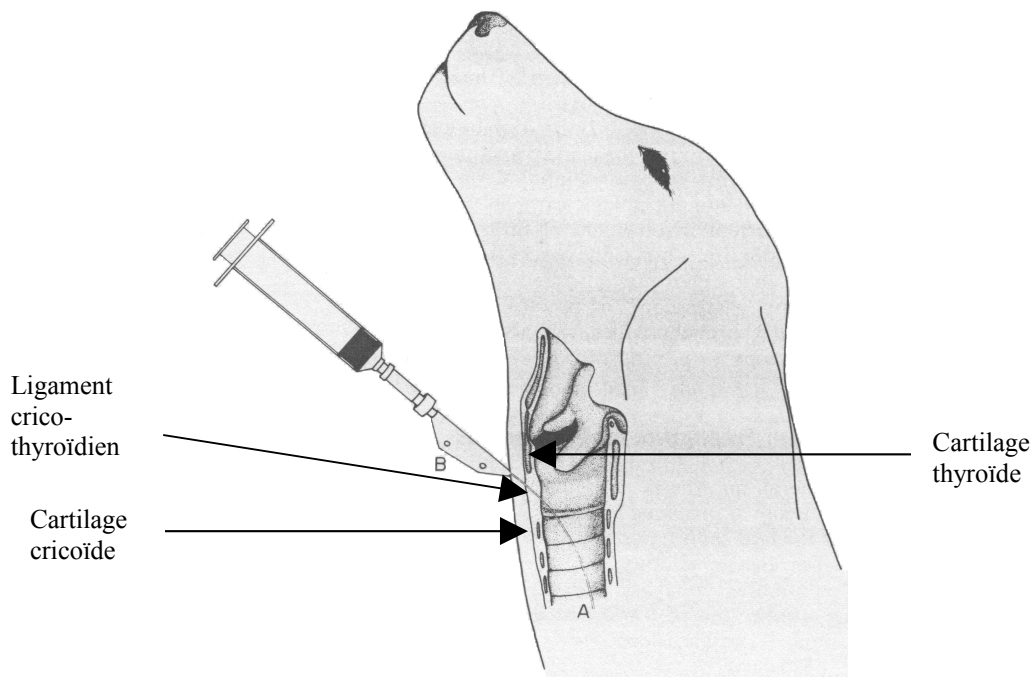
Enfin, le site de ponction doit être anesthésié par des injections sous-cutanées de 0,5 à 1ml de lidocaïne avant de commencer l'opération (23).



## d/ Réalisation du lavage transtrachéal

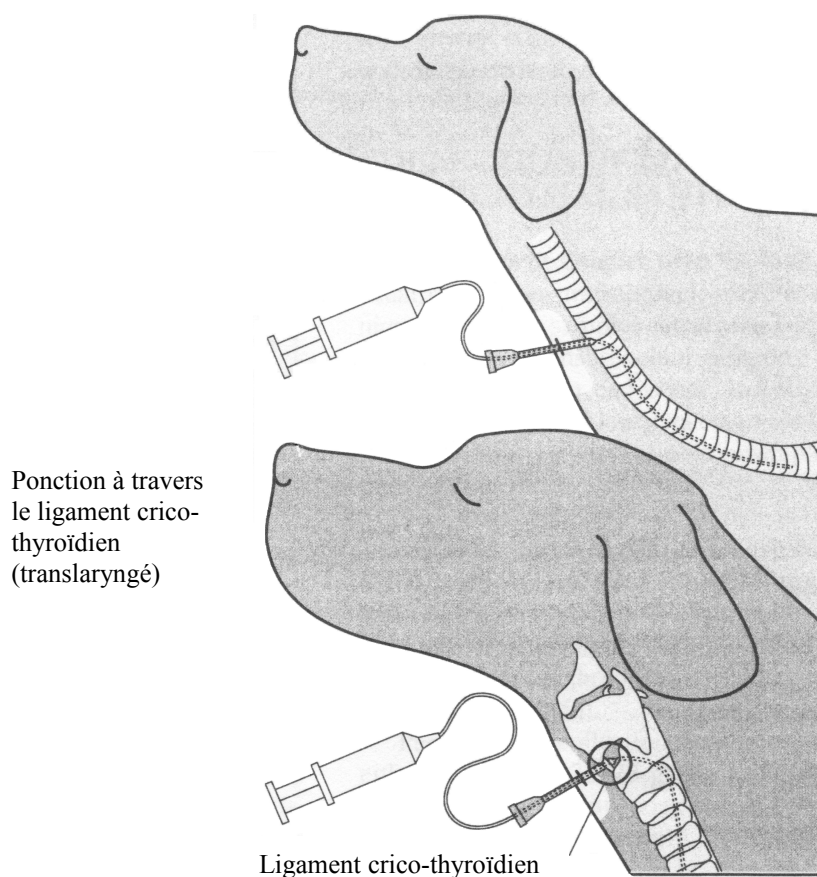
### ➔ PONCTION

S'il utilise un cathéter jugulaire, l'opérateur en désolidarise l'aiguille et laisse la tubulure dans son étui ou sur le champ stérile (23). Il la saisit (ou le trocart) et en oriente le biseau vers le sol ; il pince la peau au-dessus du ligament crico-thyroïdien et il la ponctionne d'un mouvement ferme mais contrôlé, ceci peut être plus facile grâce à une petite incision de 2 à 4 mm de long (10 et 15). Ensuite, la main libre saisit la trachée et la maintient fermement car son défaut de stabilisation est la première cause d'échec dans la réalisation du lavage transtrachéal. L'aiguille (ou le trocart) est appliquée contre le ligament crico-thyroïdien guidée par un doigt selon un angle qui varie en fonction des auteurs : certains préconisent qu'il soit grand (120 °) pour limiter les risques de lésions de la partie dorsale de la trachée (23 et 28) tandis que d'autres préfèrent ponctionner la trachée perpendiculairement pour éviter de déraper sur la face ventrale de l'organe (15). Le passage du ligament est facilité par la main libre qui retient aussi la peau entre deux doigts ; quand il est franchi, l'opérateur peut sentir un reflux d'air (23), le chien peut aussi déglutir ou tousser au moment où l'air pénètre dans la trachée (28).



**Fig 1 : Ponction à travers le ligament crico-thyroïdien.**

Le cathéter intraveineux est inséré à l'intérieur de la trachée (A) ; la garde en plastique (B) empêche l'aiguille de sectionner le cathéter (d'après 28).



**Fig 2 : Lavage transtrachéal : deux techniques de prélèvement (d'après 10)**

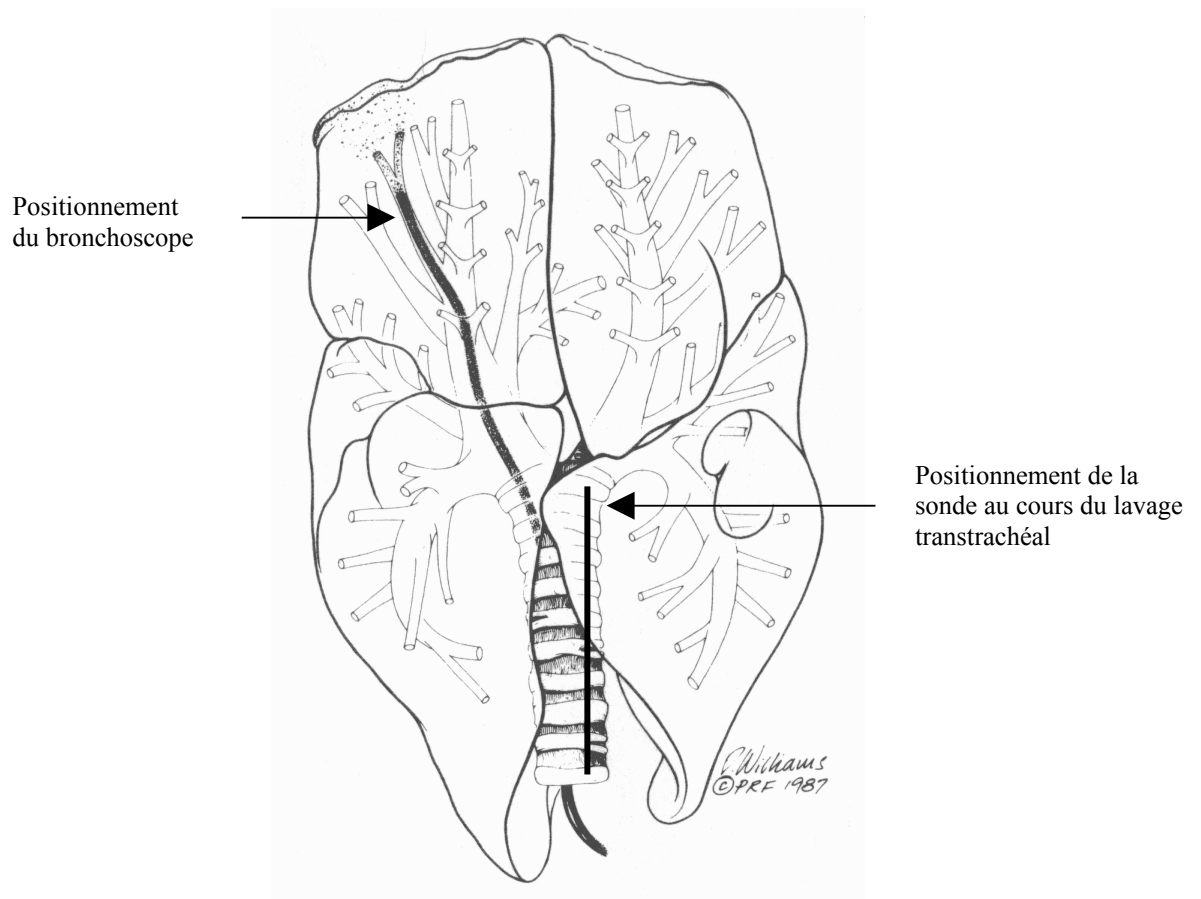
## ➔ LAVAGE

L'aiguille (ou le trocart) est enfoncée jusqu'à la garde et est positionnée le plus parallèlement possible à la trachée (15). Une main la maintient contre le cou du chien afin d'éviter toute déchirure si l'animal venait à faire un mouvement. Le cathéter (ou la sonde urinaire) doit être introduit sans forcer dans la lumière trachéale ; il est possible de faire basculer l'extrémité de l'aiguille (ou du trocart) vers le bas ou de la retirer de quelques millimètres si le sondage s'avère difficile : en effet, le cathéter (ou la sonde urinaire) est probablement bloqué contre la paroi opposée de la trachée (33) ou encore la ponction a été ratée et le cathéter (ou la sonde urinaire) se trouve dans les tissus périlaryngés (11). Il ne faut pas hésiter alors à recommencer l'opération depuis le début.

Il est capital de ne jamais retirer le cathéter à travers l'aiguille car il pourrait être sectionné par son bord tranchant à l'intérieur de la trachée (33). De même, l'orientation du biseau vers le bas permet d'éviter de le déchirer pendant sa progression (23). Pour certains auteurs le cathéter (ou la sonde urinaire) est introduit jusqu'à la bifurcation trachéo-bronchique, la longueur nécessaire est déterminée à l'avance et doit atteindre à peu près le

quatrième espace intercostal (28), alors que pour d'autres, il faut l'avancer aussi loin que possible dans la trachée distale ou même dans une bronche principale, jusqu'à ce que sa progression ne soit plus possible (7 et 12). Quand le cathéter est en place dans les voies respiratoires, l'aiguille est retirée et la personne qui tient le chien doit maintenir la garde du cathéter contre le cou de l'animal ; celui-ci peut alors prendre une position plus naturelle (33).

Il peut arriver que le cathéter (ou la sonde urinaire) se plie à l'intérieur de la trachée et atteigne le pharynx, ce qui est à l'origine d'une contamination qui rend le prélèvement difficile à interpréter (11).



**Fig 3 : Positionnement de la sonde (ou du cathéter) à l'intérieur des voies respiratoires comparé à celui du bronchoscope (d'après 43).**

La technique bronchoscopique garantit un lavage broncho-alvéolaire au sens strict du terme.

Les volumes de liquides à injecter varient de 1 à 50 mL selon les auteurs et selon le poids des chiens : en moyenne, il est possible d'utiliser des bolus de 0,5 mL/kg et il est important de ne pas dépasser 1 mL/kg par injection pour éviter tout risque de complications respiratoires (28 et 39). Il est également recommandé de laisser 5 mL d'air dans la seringue : l'injection du liquide et du volume d'air résiduel réalisé avec la position la plus verticale

possible permet d'injecter la totalité du sérum physiologique dans l'appareil respiratoire et d'éviter qu'il n'en reste au niveau de la sonde (18).

**Fig 4 : Volume de sérum physiologique injecté et récupéré lors de la réalisation d'un lavage broncho-alvéolaire selon plusieurs auteurs**

AUTEURS	VOLUMES PRECONISES	VOLUMES RECUPERES
<b>CREIGHTON</b> 1974 (12)	1 à 25 mL, au total, injectés par bolus de 1 à 2 mL	0,5 à 2 mL
<b>BAUER</b> 1983 (4)	2 à 5 mL injectés par bolus de 0,5 mL	NP
<b>RAKISH</b> 1989 (39)	12 à 20 mL en tout, injectés par petits bolus de 2 à 3 mL	2 à 5 mL
<b>HAWKINS</b> 1992 (33)	4 à 6 bolus de 3 à 5 mL dans des seringues de 12 mL	1 à 2 mL
<b>JAFFE</b> 1998 (23)	plusieurs bolus de 0,5 mL/kg dans des seringues de 12 ou 35mL	10 % du volume injecté
<b>CORCORAN</b> 1998 (10)	3 à 5 bolus de 2 à 15 mL	20 à 30 % du volume injecté
<b>MASSERDOTTI</b> 1998 (30)	10 à 60 mL	10 à 20%
<b>COWELL</b> 1999 (11)	1 à 2 mL/5 kg dans une seringue de 12 mL	NP
<b>MC CULLOUGH</b> 1999 (28)	plusieurs bolus de 5 à 10 mL	NP
<b>GAMET</b> 2001 (15)	5 à 15 mL injectés 2 à 3 fois	NP

NP : non précisé

La plupart des auteurs recommandent d'injecter un soluté isotonique stérile et chaud, petits volumes par petits volumes (du NaCl à 0,9 % qui est le plus fréquemment cité ou, à défaut, du lactate de Ringer) et d'effectuer plusieurs aspirations à la seringue entre chaque instillation et aux moments où le chien tousse. Un petit mouvement de va-et-vient imposé au cathéter (ou à la sonde urinaire) peut faciliter cette opération (7 et 39). La pression imposée à la seringue doit être de courte durée (quelques secondes) : si elle est appliquée trop

longtemps, le risque de contamination augmente car, au cours d'un effort de toux, le liquide peut remonter dans la cavité oro-pharyngée puis être aspiré (11) ; de plus, elle ne doit pas être trop forte car elle provoquerait un collapsus au niveau des voies respiratoires distales et cela diminuerait la quantité de liquide récupéré tout en augmentant le pourcentage de cellules épithéliales dans le prélèvement (27). Après chaque aspiration, l'opérateur doit détacher la seringue du cathéter (ou de la sonde urinaire) et en évacuer l'air. Le plus pratique est d'utiliser plusieurs seringues contenant des petits volumes de liquide à injecter en une seule fois et de taille assez grande pour permettre une aspiration suffisante (33). Une autre solution consiste à disposer d'une seringue contenant la totalité du liquide à injecter petit à petit et d'en utiliser d'autres pour récolter les prélèvements (11 et 23). Il peut être nécessaire d'ajuster la position du cathéter (ou de la sonde urinaire) au cours de la procédure (23).

L'opération est répétée jusqu'à ce qu'un échantillon suffisant soit récupéré (39) mais il n'est pas nécessaire d'injecter de trop grandes quantités de liquide car même s'il est possible d'en récolter davantage, la valeur diagnostique est diminuée par effet de dilution (11). Le liquide récolté est trouble et présente des particules en suspension ; il est d'autant plus mousseux qu'il a été réalisé profondément. Quand l'examen est terminé, une dernière aspiration permet de récupérer le contenu du cathéter ou de la sonde urinaire (23).

Une pression digitée appliquée sur la zone de ponction pendant quelques minutes et un pansement légèrement compressif, imbibé d'une substance antiseptique et laissé en place 24 heures, devraient permettre d'éviter la formation d'un emphysème sous-cutané, d'une infection ou d'un hématome (33). Si une incision a été pratiquée, elle doit être refermée. Le chien est ensuite placé dans une cage, au repos pendant quelques heures. Une oxygénation de l'animal est rarement nécessaire mais il est plus prudent de disposer du matériel de réanimation au cas où le besoin s'en ferait sentir.

Il est à noter que dans certains cas, qui ne sont pas les plus fréquents, de maladie pulmonaire avec productions importantes il peut ne pas être nécessaire d'injecter du liquide, une aspiration directe des sécrétions respiratoires est alors suffisante (11).

Enfin, en cas d'échec, il est possible de recommencer l'opération mais il est alors nécessaire d'attendre 48 heures : en effet, du sang pourrait contaminer le nouveau prélèvement et un afflux de polynucléaires neutrophiles lié aux injections répétées de sérum physiologique rendrait l'interprétation cytologique difficile (27).

**Fig 5 : Difficultés éventuelles du lavage broncho-alvéolaire: causes et solutions d'après E. C. HAWKINS (33)**

Problèmes rencontrés	Causes éventuelles	Solutions
Peu ou pas de liquide récupéré	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Longueur du cathéter dans les voies aériennes inadaptée : <ul style="list-style-type: none"> <li>- trop grande : cathétérisme d'une bronche</li> <li>- trop petite : cathéter dans la trachée extrathoracique</li> </ul> </li> <li>2. Extrémité de la sonde urinaire recourbée de telle sorte qu'elle ne glisse pas le long de la paroi ventrale de la trachée</li> <li>3. Délai entre les instants d'injection et d'aspiration trop long</li> <li>4. Aspiration pas assez vigoureuse</li> </ol>	<p>Mesurer la distance entre le ligament crico-thyroïdien et le quatrième espace intercostal et s'assurer que le cathéter est suffisamment long</p> <p>Etirer la sonde avant de l'utiliser ; une fois qu'elle est en place, effectuer une rotation de la sonde autour de son axe jusqu'à améliorer le rendement de l'aspiration</p> <p>Aspiration vigoureuse immédiatement après instillation du liquide</p> <p>Utiliser une seringue d'au moins 12 mL et aspirer avec force</p>
Récupération de sérum physiologique seul	Trop peu d'aspirations réalisées pour récupérer le mucus contenu dans la tubulure du cathéter	Aspirer plusieurs fois après chaque instillation de liquide ; le mucus est extrait des voies respiratoires avec une infusion de sérum physiologique suffisante
Pression d'aspiration négative	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Cathéter coincé au niveau du cou</li> <li>2. Mucus épais qui obstrue la lumière du cathéter</li> <li>3. Extrémité du cathéter bouchée par la paroi trachéale</li> </ol>	<p>Réajuster la position de la tête</p> <p>Aspirer de façon continue et vigoureuse pour récupérer ce matériel intéressant ; sinon, envisager d'utiliser un cathéter de plus grand diamètre</p> <p>Effectuer des petits mouvements de va et vient ou de rotation</p>

#### e/ Traitement des prélèvements

Tous les auteurs s'accordent à signaler que les cellules du liquide de lavage transtrachéal sont très fragiles et des délais de préparation trop importants entraînent le risque que les macrophages et les polynucléaires neutrophiles commencent leur activité de phagocytose *in vitro* (28). Les prélèvements doivent donc être exploités avec le moins de manipulations possibles dans les 15 à 30 minutes qui suivent leur récolte (33) ; en attendant, ils peuvent être placés dans de la glace ou au réfrigérateur (19).

Quand une culture bactériologique est demandée, et c'est le plus souvent le cas, elle doit être réalisée avec 0,5 à 1 mL de liquide récupéré pendant les premières aspirations (risques de contamination moindres) et placé dans un tube sec stérile. Le liquide restant est mis en présence d'un anticoagulant (EDTA) avant d'être traité.

Des étalements sont réalisés à partir de tous les aliquotes obtenus. Il est recommandé de retirer le mucus avec une aiguille car sa richesse en protéines est susceptible de favoriser la formation d'amas de cellules ce qui peut gêner l'interprétation microscopique. Toutefois la réalisation de frottis à partir de mucus est intéressante car les agents infectieux et les cellules inflammatoires y sont particulièrement concentrés. C'est la raison pour laquelle E. C. Hawkins ne recommande pas de filtrer les prélèvements à travers une compresse, certains éléments diagnostiques seraient ainsi perdus (33).

Les étalements sont effectués directement à partir du liquide ou après centrifugation ou sédimentation (33) : si le liquide est franchement trouble des frottis sont faits directement ; par contre, s'il apparaît peu ou pas trouble, il est préférable de faire l'étalement à partir du culot de centrifugation remis en suspension dans un fond de liquide surnageant (25). La cyto-centrifugation est plus intéressante car elle permet d'obtenir des préparations où les cellules y sont plus concentrées et moins abîmées (40) mais cette technique nécessite l'utilisation d'une cyto-centrifugeuse, matériel onéreux. La centrifugation peut être réalisée à une vitesse de 1000 tours/minute pendant 10 minutes (30), 1000 à 1500 tours/minute pendant 5 minutes (11) ou encore à 1200 tours/minute pendant 15 minutes (6). Le liquide surnageant est retiré et le culot est remis en suspension dans du sérum physiologique. La cyto-centrifugation est réalisée à partir de 100 ou de 200 µL de liquide. Si le prélèvement est particulièrement riche en cellules, des volumes plus petits de 50 ou 100 µL sont dilués de moitié ou au quart avec du sérum physiologique avant d'être utilisés (19).

Les frottis fixés par séchage se conservent bien. Ils peuvent également être fixés à l'alcool 95% ou avec du CYTOFIX ND dilué de moitié pour des colorations spécifiques (10).

Enfin, ils sont colorés :

- au colorant de Wright ou Romanovsky rapide équivalents du May-Grünwald-Giemsa (19 et 30) après séchage à l'air libre,
- à l'hémalin-éosine ou au colorant de Papanicolaou (30) après fixation à l'alcool.

### **3/ Complications et contre-indications**

#### **a/ Complications**

A première vue, il semblerait qu'elles soient rares mais un auteur présente cette procédure comme invasive et non dénuée de conséquences graves (4).



En 1974, aucun effet secondaire n'était déjà décrit chez le chien mais l'expérience en médecine humaine rapportait des complications (12):

- cardiaques (fibrillation atriale, bradycardie, arrêt cardio-pulmonaire),
- respiratoires (fausses déglutitions, hémoptysie transitoire, emphysème médiastinal),
- locales (infection du site de ponction, emphysème sous-cutané).

Par la suite, l'expérience a mis en évidence des conséquences diverses chez le chien :

- liées à la ponction ou à l'aiguille : infection et saignement local (15) ; emphysème sous-cutané, éventuellement compliqué en pneumo-pharynx, pneumo-médiastin ou pneumo-thorax responsables d'une insuffisance respiratoire ; obstruction des voies aériennes si le cathéter a été sectionné par l'aiguille (4) ; traumatismes laryngés si le chien a bougé (28)
- liées au sondage : hémorragie trachéale avec hémoptysie, toux, dyspnée (4) et déchirures de la trachée (11)
- liées à l'injection de liquide dans les poumons : des volumes importants n'entraînent des modifications morphologiques et fonctionnelles que modérées et transitoires chez des chiens sains (19). Même en cas de broncho-pneumopathie, le liquide en excès est rapidement résorbé sans effets secondaires graves et l'examen peut être répété sans complications majeures (30). Toutefois, chez des chiens de très petite taille, une hypoxie transitoire peut se manifester (7).

Une étude s'est intéressée de plus près aux lésions radiographiques et histologiques consécutives à des lavages broncho-alvéolaires réalisés par sondage endotrachéal. La découverte essentielle était un œdème accompagné de comblement alvéolaire localisé au site d'infusion du liquide et des signes de congestion et de collapsus dans les zones plus distales. La densification pulmonaire était présente sur des clichés radiographiques pendant les sept heures qui suivaient la procédure, ce qui rendait cet examen ininterprétable et justifie qu'il soit effectué avant le lavage transtrachéal ; cliniquement, une hypoxie transitoire et des crépitations audibles à l'auscultation étaient présents durant cette période. Aucune mesure de clairance du liquide injecté n'a été effectuée mais une injection de 3 mL/kg n'est pas éliminée en douze heures. Par ailleurs, il est intéressant de noter qu'un volume de 50 mL injecté sur des chiens de taille moyenne ne provoque aucune lésion du parenchyme pulmonaire (27).

## **b/ Contre-indications**

Par ailleurs, il existe un certain nombre de contre-indications qui demeurent toutefois peu fréquentes : il s'agit de toute coagulopathie, en raison des risques hémorragiques liés à la

ponction (15 et 28). Toute dyspnée sévère ou hypoxie doit également inciter à envisager cet examen avec beaucoup de réserves car un stress supplémentaire peut facilement précipiter une crise ou aggraver une détresse respiratoire (33). Enfin, quand une sédation est nécessaire, il est important de s'assurer que l'animal est en état de supporter l'administration d'un tranquillisant (27).

#### **4/ Inconvénients et avantages du lavage transtrachéal**

Tout d'abord, l'inconvénient majeur de cette technique est qu'elle est peu standardisée : il existe une grande variabilité dans les volumes de liquide injectés ou récupérés, la force d'aspiration dépend du manipulateur et de la seringue utilisée, la récolte du prélèvement est fonction de la toux de l'animal ou d'une éventuelle tranquillisation.

De plus, la nature même du lavage est variable selon la profondeur du sondage : ainsi, lorsque la partie de la sonde introduite est longue (surtout chez les petits chiens) le liquide est injecté au niveau broncho-alvéolaire, tandis qu'un sondage plus court (pour les gros chiens) a tendance à localiser l'examen au niveau trachéal.

Tous ces éléments tendent à rendre le lavage transtrachéal peu reproductible et il sera important d'en tenir compte lors de l'examen cytologique ; de même, tous les frottis devront être examinés au microscope car leur intérêt est variable selon s'ils ont été réalisés à partir de liquide prélevé au début ou à la fin du lavage (42).

Un autre inconvénient réside dans le fait qu'il est surtout pratiqué sur des animaux de taille moyenne : il peut, en effet être difficile à effectuer sur des chiens de très petit gabarit, pour lesquels il est préférable d'envisager un sondage endotrachéal ; en ce qui concerne les races géantes un passage entre les anneaux trachéaux peut être délicat à réaliser. Toutefois, en théorie, il peut être pratiqué sur tout animal quelle que soit sa taille (33).

Enfin, tous les auteurs s'accordent à déplorer que le lavage transtrachéal soit peu spécifique et peu sensible des problèmes respiratoires interstitiels : il est, en effet, plutôt indiqué dans les maladies des voies respiratoires et un examen bronchoscopique peut s'avérer nécessaire lors de pathologie purement alvéolaire ou parenchymateuse. Mais il est toutefois possible d'obtenir des prélèvements de très bonne qualité.

D'autre part, le lavage transtrachéal présente des avantages qui le rendent extrêmement intéressant :

- c'est un acte simple et rapide quand il est bien maîtrisé, il ne nécessite que très peu de matériel et pas d'équipement spécifique, il est ainsi très peu onéreux,

- il est bien toléré car quasiment non douloureux, il ne nécessite pas d'anesthésie générale et les complications sont rares,
- la technique de passage direct dans la trachée est très pratique pour limiter les risques de contamination oro-pharyngée rencontrés de façon courante lors de prélèvement par sondage endotrachéal.

Il s'agit donc d'un acte à pratiquer en première intention dans l'exploration des maladies respiratoires profondes avant de chercher à utiliser des examens plus invasifs. Sa bonne tolérance et le peu d'équipement nécessaire permettent de le réaliser en routine dans n'importe quelle structure vétérinaire sous réserve qu'elle dispose d'un minimum de matériel pour oxygéner le chien si cela était nécessaire.

## **PARTIE 2 - Examen microscopique**

Il s'effectue d'abord à faible grossissement (objectif 100) et consiste dans un premier temps à évaluer la richesse en cellules, la qualité de la coloration et de l'étalement, l'aspect

global du fond du frottis. A ce stade, des organismes étrangers parasites peuvent être visualisés.

Ensuite, au grossissement moyen (objectif 400), il est possible de repérer les zones de lecture où les cellules sont suffisamment nombreuses pour être représentatives du reste de l'étalement mais assez bien réparties pour être identifiables. De plus, à ce stade, certains éléments diagnostiques de petite taille sont parfois visibles.

Enfin, le fort grossissement (objectif 1000) permet d'apprécier précisément l'aspect des cellules ou de confirmer la présence des éléments suspects repérés aux objectifs plus faibles. C'est également à ce niveau que s'effectue la recherche de micro-organismes très petits (bactéries).

## **1/ Qualité du frottis**

Il est important, avant d'entreprendre l'analyse cytologique, de prendre le temps d'examiner l'ensemble des étalements et d'en évaluer certains aspects :

- La qualité de la coloration : le Wright-Giemsa est le colorant de choix car il met en évidence les granulations métachromatiques des mastocytes ; le colorant de Papanicolaou n'est utile qu'en cas de suspicion de processus néoplasique en permettant de mieux visualiser les atypies cellulaires (40).
- La richesse en cellules : certains auteurs ont déploré que le lavage transtrachéal soit peu efficace pour obtenir des prélèvements très représentatifs (33) tandis que d'autres pensent qu'il est tout à fait possible d'obtenir des échantillons de qualité. Quoi qu'il en soit, la cytocentrifugation semble préférable à la centrifugation ou à la sédimentation car elle permet d'obtenir des frottis où les cellules sont abondantes et surtout beaucoup moins abîmées (40).
- La présence d'éléments étrangers évidents (larves de parasites), d'une contamination oro-pharyngée, d'une catégorie cellulaire très majoritaire.

### **a/ Fond du frottis**

#### **➔ MUCUS**

C'est une structure acellulaire qui apparaît sous forme de plages amorphes ou de cordons vrillés qui lui donnent un aspect strié. (11). Il prend normalement une coloration basophile mais peut être éosinophile, variant du rose au rouge foncé, en cas d'inflammation

exsudative c'est-à-dire marquée par un afflux important de protéines ainsi que par une grande quantité de matériel cytoplasmique libéré par les cellules dégénérées. Il provient des sécrétions des cellules épithéliales bronchiques et est présent en petite quantité chez les animaux sains (12).

Il est plus abondant et plus visqueux lors de processus irritatifs ou inflammatoires chroniques. Il doit son aspect strié à la sécrétion de mucopolysaccharides par les glandes muqueuses et séro-muqueuses de l'épithélium respiratoire : dans sa forme la plus typique, c'est une structure géométrique ramifiée de paquets entrecroisés. Lors d'inflammations aiguës, les cellules à mucus sont très stimulées et le mucus, beaucoup plus épais, apparaît comme des paquets grossiers où l'on distingue des striations. Lorsque l'activité des glandes tubulo-acineuses est augmentée, elles ont tendance à produire un mucus plus fluide qui perd alors son aspect géométrique typique.

Dans certains cas de maladies bronchiolaires chroniques, le mucus s'épaissit et se vrille à l'intérieur des petites voies respiratoires ; il devient alors compact et apparaît sous la forme typique de "spirales de Curshmann", structures enroulées éosinophiles où le mucus s'accumule et se condense. Elles caractérisent les processus obstructifs rencontrés en cas d'inflammation ou de phénomènes néoplasiques (30).

#### ➡ AUTRES ELEMENTS :

- Des concrétions amorphes extrêmement colorées de structure laminée correspondant à des protéines accumulées ou à des cellules dégénérées à des stades terminaux : elles sont physiologiques chez le chien, ce qui n'est pas le cas du cheval (40). Il est également fréquent de retrouver des débris cellulaires, notamment en cas de maladies septiques broncho-pulmonaires accompagnées de nécrose intense (12).
- Des hyphes fongiques rencontrés de façon occasionnelle (40).
- Des grains de talc provenant des gants stériles : ce sont de grandes structures arrondies ou hexagonales de couleur bleutée, claire. Ils ne doivent pas être confondus avec des micro-organismes et peuvent inciter les manipulateurs à éviter l'utilisation des gants (11).
- Des grains de pollen ou des cellules végétales qui sont parfois récoltés dans le liquide de lavage : ils n'ont aucune valeur diagnostique sauf dans le cas d'hypersensibilités où ils peuvent éventuellement évoquer l'origine de l'allergie (11).

- Des globules rouges issus d'un traumatisme pendant le lavage transtrachéal ou prouvant l'existence d'une hémorragie : des indices permettent de distinguer les deux situations et seront importants à identifier pour l'interprétation des résultats (12).
- Des granulations libres issues des polynucléaires éosinophiles, des mastocytes ou des cellules à mucus qui ne doivent pas être confondues avec des micro-organismes ; cils provenant des cellules épithéliales.

#### **b/ Contamination oro-pharyngée**

Elle est mise en évidence par la présence de cellules épithéliales squameuses non kératinisées desquamées à partir de l'épithélium de revêtement de la cavité oro-pharyngée : elles sont de grande taille, de forme polygonale très anguleuse et de coloration légèrement basophile ; le plus souvent, elles sont anucléées mais présentent parfois un noyau picnotique et petit ou de forme ronde en position centrale (30). De plus, des bactéries issues de colonies mixtes sont visibles en grandes quantités en position intracytoplasmique ou libres sur le fond du frottis. La plus commune est *Simonsiella sp* : ces micro-organismes Gram négatif sont des commensaux de la cavité orale des carnivores domestiques. Ce sont des bacilles de grande taille, à l'aspect de gélules et faciles à repérer, surtout lorsqu'ils sont associés en chaînettes. De tels prélèvements peuvent éventuellement donner lieu à une interprétation cytologique mais sont absolument inexploitable pour une analyse bactériologique (39).

#### **c/ Lavage trachéo-bronchique versus lavage broncho-alvéolaire**

A un grossissement modéré, il est déjà possible de savoir si le lavage a été réalisé bien en profondeur ou s'il s'est contenté de se localiser aux voies respiratoires principales. En effet, selon l'étage auquel est effectué le prélèvement, la nature même des cellules n'est pas la même : lorsque l'échantillon est représentatif de la sphère trachéo-bronchique, les cellules prédominantes sont de nature épithéliale et l'on observe principalement des petits amas cellulaires, tandis qu'un lavage broncho-alvéolaire présente une majorité de macrophages qui apparaissent sous forme d'un panachage de cellules rondes de tailles variables mais bien séparées les unes des autres (33).

Une étude en médecine humaine s'est intéressée à un moyen efficace de séparer la fraction broncho-alvéolaire du reste du prélèvement : il s'agissait tout simplement d'analyser le premier aliquote récupéré séparément des autres qui étaient mélangés. Le premier lavage

s'est avéré plus riche en cellules épithéliales et le mélange obtenu à partir des lavages suivants particulièrement spécifiques de l'étage bronchique (42).

En pratique, une analyse bactériologique est quasiment systématiquement demandée en parallèle de l'examen microscopique, elle est toujours réalisée à partir du premier aliquote, représentatif des voies respiratoires hautes (risque de contamination pendant le prélèvement moins élevé), tandis que l'analyse cytologique qui est effectuée sur les prélèvements suivants devrait être plus intéressante pour explorer les voies respiratoires plus profondes.

## **2/ Différents types de cellules**

### **a/ Cellules épithéliales**

Elles sont mononucléées, ciliées et non ciliées et se présentent globalement sous deux formes selon si leur origine est bronchique, intermédiaire ou bronchiolaire (30) :

- en colonne, d'aspect allongé, la ciliature régulièrement disposée sur le pôle apical qui est aplati et appelé "plateau terminal" (30) ; le noyau rond ou ovale hyperchromique (40) en position basale à chromatine finement granuleuse ; le pôle basal souvent affiné en forme de queue : ce type de cellule est surtout issu de l'épithélium proximal,
- cuboïdes, semblables aux précédentes : ces cellules proviennent des voies respiratoires profondes (11).

Ces cellules sont la preuve que le lavage a drainé les voies respiratoires. Elles ont tendance à desquamer isolées ou en petites rangées (41). Quand elle est présente, la ciliature est bien visible avec son aspect de chevelure et est colorée dans des tons rose à violet (40 et 41). En fonction de l'orientation des cellules sur le frottis, il est parfois difficile de différencier les deux types cellulaires surtout si elles sont regroupées mais cela n'est pas très important tant qu'elles ne sont pas prises pour des cellules anormales (11). Il est à noter que si elles stagnent trop longtemps (plus de 20 à 30 minutes) dans le liquide de prélèvement, leurs cils ont tendance à se décrocher et il est possible de les retrouver sur le fond du frottis (40).

Certaines cellules épithéliales, spécialisées dans la production de mucus, ont leur noyau complètement excentré vers le pôle basal par l'accumulation de mucine dans leur cytoplasme : ce sont les cellules à mucus. Elles conservent en général une forme allongée mais ont parfois un aspect arrondi quand leur cytoplasme est complètement distendu par les vacuoles de sécrétion. Celles-ci se présentent sous la forme de granulations grossières de couleur rouge à bleutée (métachromatique) ou de gouttelettes contenant un mucus pâle ou

incolore (41). Il est possible de trouver des granules libres sur le fond du frottis après rupture de cellules à mucus. Ce type cellulaire ne peut pas être confondu avec le mastocyte, en raison de la forme irrégulière de la cellule (le mastocyte est bien rond) et de la grande taille des granulations (11). Il correspond à la couche la plus superficielle de l'épithélium respiratoire et est en général faiblement représenté. Juste en dessous se trouve la couche de cellules cuboïdes non ciliées qui se différencie et remplace progressivement la couche de cellules à mucus (30).

Altérations non spécifiques :

- Une augmentation du nombre de cellules à mucus peut accompagner tout phénomène irritatif chronique (11) et se traduit par une augmentation de la quantité et de la viscosité du mucus.
- La présence massive de cellules cuboïdes non ciliées peut indiquer des processus réactifs, dysplasiques ou même parfois néoplasique (30).

Les modifications plus spécifiques (inflammatoires et néoplasiques) seront vues dans la troisième partie qui traite l'interprétation cytologique.

Enfin, il est possible de trouver des cellules basales regroupées par dix ou quinze sous forme de petits amas. Elles sont polygonales (41) ou de forme arrondie à ovale et souvent bien adhérentes entre elles ; leur noyau est très dense, en position centrale et leur cytoplasme de teinte basophile. Plus la cellule est jeune, plus son rapport nucléo-cytoplasmique est élevé (41).

## **b/ Le macrophage alvéolaire**

Il est produit par la moelle osseuse à partir de la cellule souche commune (Multipotential Stem Cell). La forme circulante est le monocyte sanguin qui colonise le territoire pulmonaire et achève sa maturation en histiocyte-macrophage dont le rôle est principalement phagocytaire mais aussi immunitaire. Il est alors présent à la surface de l'épithélium alvéolaire et est capable de se multiplier sur place. Lorsqu'il est largement majoritaire sur les frottis, il est la preuve que le prélèvement a été réalisé très profondément dans les voies respiratoires, il sert alors d'indicateur de la qualité du lavage.

Ce sont de grandes cellules arrondies avec un petit noyau parfois indenté et au cytoplasme basophile, d'intensité variable. Selon leur degré de stimulation, elles sont plus ou moins activées et sont classées arbitrairement ainsi (31) :

- Les grands macrophages très activés sont des cellules géantes éventuellement plurinucléées mesurant de 20 à 40µm. Leur abondant cytoplasme possède de nombreuses



vacuoles ainsi que des débris hétérogènes. La chromatine est fine et la présence de nucléoles n'est pas exceptionnelle (40).

- Les macrophages intermédiaires sont majoritaires et mesurent de 14 à 19µm. Leur cytoplasme abondamment granuleux ne présente que peu ou pas de vacuoles. Le contour cellulaire plutôt régulier possède parfois des pseudopodes. Ces cellules sont éventuellement binucléées (40).
- Les petits macrophages non activés mesurent de 9 à 11µm et sont difficiles à différencier des petits lymphocytes dans les préparations non colorées.

En fait, tous les intermédiaires existent et au fur et à mesure de la différenciation, la cellule change d'aspect (41):

- Le noyau, de forme arrondie ou en haricot, prend une position plus excentrée et les nucléoles deviennent visibles ; chez les individus sains, la binucléation est exceptionnelle (11) et le noyau des cellules activées présente un nucléole simple (40).
- Le rapport nucléo-cytoplasmique diminue : le cytoplasme devient plus abondant et ses fines granulations basophiles sont peu à peu remplacées par un contenu plus hétérogène : la teinte devient plus pâle, des vacuoles envahissent la cellule et des éléments phagocytés sont parfois visibles (hématies, débris de cellules, matériel lipidique sous forme de zones claires, micro-organismes, pigments noirs d'antracose en cas de pollution urbaine) ; ceci a incité certains auteurs à qualifier le macrophage de "cellule poubelle" (30).
- Le contour cellulaire devient plus irrégulier au fur et à mesure que le macrophage devient plus gros.

Lorsque le lavage est purement trachéal, les macrophages sont rares tandis qu'ils sont majoritaires sur un prélèvement réalisé au niveau broncho-alvéolaire. Chez un individu sain, la forme de macrophage qui est la plus représentée est celle qui est peu ou pas activée et constitue 95 % du nombre total de macrophages ; les 5 % de cellules différenciées ont une taille dans les limites inférieures des valeurs usuelles (40).

### **c/ Les cellules inflammatoires**

#### **➔ POLYNUCLEAIRES NEUTROPHILES**

Ils sont synthétisés dans la moelle osseuse : la cellule souche (Multipotential Stem Cell) se multiplie en donnant des métamyélocytes qui évoluent en promyélocytes, puis en myélocytes neutrophile ; ces derniers se différencient en polynucléaires, forme sous laquelle

ils se retrouvent dans le sang. Une partie d'entre eux (environ un tiers) est marginée à l'intérieur des vaisseaux sanguins, ils peuvent alors retourner dans la circulation ou aller se localiser dans les tissus par diapédèse, attirés par des substances chimio-attractives sécrétées en cas d'inflammation aiguë ou d'infection bactérienne.

Chez le chien sain, ils sont peu nombreux. Ils sont faciles à reconnaître et présentent le même aspect que sur les frottis sanguins : leur cytoplasme est clair ou ponctué de fines granulations neutrophiles ; le nombre de lobes nucléaires est fonction du temps passé dans les voies respiratoires mais il est souvent supérieur à quatre (40).

Toutefois, leur apparence change en fonction de la présence éventuelle d'une inflammation et les cellules en voie de nécrose prennent une allure dégénérée : le noyau, devenu turgescents, devient plus clair et plus éosinophile ; il perd son aspect motté pour apparaître homogène. La membrane nucléaire peut se rompre et des fragments de noyau sont visibles dans le cytoplasme. Quand la membrane cellulaire se rompt, des filaments de chromatine s'étalent sur le frottis. (12).

## ➔ POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES

Ils sont également issus de la myélopoïèse, le caractère éosinophile se manifestant à partir du stade myélocyte. Leur localisation finale est purement tissulaire, leur passage dans le sang n'étant que transitoire et temporaire sous l'influence de diverses substances également sécrétées par les cellules inflammatoires. Quand ils sont activés, les polynucléaires éosinophiles présentent des propriétés cytotoxiques importantes envers toute forme de parasites (helminthes en particulier) ; ils participent aussi aux phénomènes d'hypersensibilité immédiate en collaboration avec les mastocytes. Enfin ils ont un rôle de phagocytes extravasculaires mais ceci est beaucoup moins important que pour les polynucléaires neutrophiles. D'une manière générale ils interviennent dans les processus chroniques à localisation tissulaire ainsi que dans des phénomènes de cytotoxicité dirigée contre des cellules saines (5).

Du point de vue cytologique, c'est une cellule ronde au noyau segmenté, le plus souvent bilobé (30), tout à fait comparable à celle que l'on peut observer sur les frottis sanguins, si ce n'est que ses granulations éosinophiles ne sont pas oranges mais plutôt dans des tons rouges à bruns (28). Ces granules caractéristiques sont des lysosomes et doivent leur teinte à un colorant acide, l'éosine (11) ; ils se présentent sous formes de ponctuations bien distinctes ou d'éléments coalescents de plus grosse taille (12) ; il est possible d'en trouver des

formes libres sur le fond du frottis suite à la dégranulation et / ou à la rupture des polynucléaires éosinophiles, ils forment alors des cristaux rhomboïdes appelés cristaux de Charcot-Leyden qui sont pathognomoniques de la présence de polynucléaires éosinophiles dans le liquide de lavage (30).

Ces cellules peuvent être accumulées dans des amas de mucus (39) ; dans les zones épaisses du frottis où l'étalement n'est pas bien réalisé, elles prennent parfois un aspect rabougri et sont alors difficiles à différencier des polynucléaires neutrophiles : l'observation d'un cytoplasme éosinophile est un bon critère pour trancher, sauf dans le cas où une inflammation exsudative serait accompagnée de polynucléaires neutrophiles toxiques dont le cytoplasme prend une teinte orangée mais cette coloration est diffuse et irrégulière (11). Il est alors préférable de rechercher les zones de lectures où les cellules sont bien séparées et les granulations éosinophiles bien visibles.

Un autre type cellulaire présentant aussi des granules cytoplasmiques éosinophiles a été identifié. Il possède un noyau non lobé d'aspect ovale, indenté ou réniforme en position excentrée et sa chromatine est nettement mottée, sans nucléoles. Cette cellule atypique rappelle le "leucocyte globule" décrit chez de nombreuses espèces d'animaux et localisé aux tractus gastro-intestinal et respiratoire. Son origine est inconnue mais ses caractéristiques suggèrent un lien avec la lignée éosinophile : on ne sait pas encore s'il s'agit véritablement d'un autre type cellulaire ou s'il correspond à un stade de différenciation précoce dans la maturation du polynucléaire éosinophile (2).

Certaines cellules ne peuvent être classées ni en polynucléaire éosinophile typique ni en forme atypique car leur noyau n'est ni franchement polylobé ni arrondi : elles sont désignées sous le terme d'éosinophile intermédiaire (40).

Ces cellules sont en principe rares chez le chien sain mais peuvent dans certains cas être présentes en grand nombre chez des animaux ne présentant aucun trouble clinique : il s'agirait de cas d'hypersensibilité subclinique ou d'éosinophilie physiologique (19).

## ➔ MASTOCYTES

Ils se retrouvent au niveau pulmonaire après une migration tissulaire. Histologiquement, il en existe deux types fondés sur la morphologie des granules : la forme "typique" retrouvée au niveau des tissus conjonctifs et la forme "atypique" caractéristique des tissus muqueux. Du point de vue cytologique, ces nuances ne peuvent pas être perçues ; mais étant donnée la rareté des mastocytes, cela n'est pas très important.

Ils sont très faciles à identifier grâce à leurs fines granulations rouge-violacé abondantes à l'intérieur du cytoplasme et qui masquent souvent leur noyau. De taille moyenne (20 à 30µm) ils sont bien arrondis et peuvent se rompre ou dégranuler. Les granulations libres en fond de frottis ne doivent pas être confondus avec des bactéries (11). Seule la coloration de Wright (ou May-Grünwald-Giemsa) permet de visualiser ses granules métachromatiques (40).

Chez le chien sain, ils sont exceptionnels. Leur rôle n'est pas très connu mais il semblerait qu'il soit important dans les mécanismes d'hypersensibilité : une étude menée sur des chiens présentant une hyperréactivité naturelle a montré une augmentation notable des mastocytes et des lymphocytes lors de stimulations allergiques (22). De plus, il semblerait que des infections virales puissent induire une hyperréactivité respiratoire par augmentation de ce contingent cellulaire et ce, en l'absence de tout autre phénomène inflammatoire (32). Enfin, un choc cardio-vasculaire entraînant un processus d'ischémie/reperfusion, serait également capable de recruter un nombre important de mastocytes et d'entraîner leur dégranulation (45).

### **c/ Les cellules de l'immunité : les lymphocytes**

Ce sont des cellules rondes à fort rapport nucléo-cytoplasmique qui sont présentes physiologiquement en petit nombre.

La majorité d'entre eux (au moins 90%) apparaît non activée : ce sont des petites cellules de 9µm de diamètre qui ont un noyau rond dont la chromatine très dense présente un aspect motté ; le cytoplasme est réduit à un fin liseré clair entourant le noyau. Les lymphocytes activés par des stimulations immunitaires sont de plus grande taille ; leur noyau est plus excentré et leur cytoplasme plus abondant et de coloration plus basophile suite à l'augmentation des synthèses protéiques. Occasionnellement, une zone décolorée adjacente au noyau correspondant à l'appareil de Golgi peut apparaître (archoplasme). Le plasmocyte peut enfin être observé. Il s'agit d'une cellule de 15 à 20µm de diamètre, dont le cytoplasme est intensément basophile sauf au niveau de l'archoplasme ; son noyau excentré possède une chromatine très mottée (40).

## **3/ Comptages cellulaires**

### **a/ Comptage total**

De nombreux auteurs sont d'avis qu'il est peu intéressant. En effet, le manque de standardisation de la technique (comme par exemple les quantités totales de liquide injecté et récolté) est à l'origine d'une grande variabilité dans les résultats obtenus. De plus, il existe une variabilité interindividuelle importante (33) : les valeurs obtenues expérimentalement à partir de Beagles, animaux élevés dans des conditions extrêmement homogènes, ne sont pas forcément applicables aux autres chiens de races différentes et vivant dans un environnement très variable.

Il peut se faire grâce aux automates et plus particulièrement ceux qui reposent sur le principe Coulter : ils évaluent le nombre de leucocytes qui est bien corrélé au nombre de cellules nucléées présentes dans l'échantillon. Le principal inconvénient réside dans le fait que le mucus peut boucher les tuyaux de l'appareil.

Les méthodes manuelles de référence utilisant les techniques d'hémocytométrie avec ou sans coloration (le cristal violet permet une meilleure identification des cellules nucléées) et sans dilution sont également très efficaces (19).

Par contre, il semblerait que le poids des chiens n'influent que très peu sur le comptage cellulaire total mais ceci n'a été vérifié que sur des chiens de taille moyenne (46).

Enfin, le comptage cellulaire total est surtout décrit lorsque le lavage broncho-alvéolaire est réalisé par bronchoscopie car les procédures de cette technique (volumes injectés, niveau du lavage) sont mieux uniformisées ce qui entraîne une meilleure homogénéité des résultats.

**Fig 6 : Les résultats obtenus par différents auteurs sont exposés dans le tableau suivant :**

Auteurs	Technique de prélèvement et de comptage	Volume récupéré	Animaux sains	Cas pathologiques
---------	---	-----------------	---------------	-------------------

<b>Rebar 1980</b> (neuf beagles) (40)	Bronchoscopie Numération par automate	80 à 90 % du volume injecté	420 à 630 cellules/ $\mu$ L	NP
<b>Brown 1983</b> (dix chiens adultes) (6)	Bronchoscopie Méthode de comptage non précisée	79% du volume injecté	15 à 98 cellules/ $\mu$ L (en moyenne, 57 cellules/ $\mu$ L)	NP
<b>Kuehn 1987</b> (six chiens sains) (19)	Bronchoscopie Méthode de comptage non précisée	NP	200 +/- 86 cellules nucléées/ $\mu$ L (54 à 454)	NP
<b>Mayer 1990</b> (dix-huit Beagles) (31)	Bronchoscopie Numération par automate	58.7 à 71 % du volume total injecté	9500 à 12800 cellules respiratoires/ $\mu$ L	NP
<b>Hawkins 1990</b> (six chiens sains) (19)	Bronchoscopie Comptage manuel	50 à 90 %	< 500 cellules nucléées/ $\mu$ L	> 1500 cellules nucléées/ $\mu$ L
<b>Cadoré 1994 (7)</b>	Bronchoscopie Méthode de comptage non précisée	NP	< 500 cellules nucléées/ $\mu$ L	NP
<b>Hawkins 1999</b> (neuf chiens) (18)	Intubation endotrachéale Comptage manuel	67 +/- 10 %	343 à 352 cellules nucléées/ $\mu$ L	NP

NP : non précisé

### b/ Comptage différentiel

Il est plus intéressant et facile à réaliser à partir du frottis. Toutefois, il est également difficile de définir des intervalles de références car ces données sont directement liées à la profondeur du lavage et la technique même de prélèvement dépend étroitement de la morphologie et la taille du chien : quantité de liquide injectée et récupérée, mise en suspension après centrifugation, nombre de lavages, pression d'aspiration, délais entre injection et récupération du fluide...(46). De plus, au sein d'une même lame, les plages

cellulaires sont souvent très hétérogènes, en particulier lorsque le mucus est abondant et rend le comptage différentiel difficile, voire périlleux à effectuer.

**Fig 7 : Comptages différentiels des cellules nucléées réalisés sur des échantillons de lavage broncho-alvéolaire obtenus par bronchoscopie chez des chiens sains :**

Auteur	Macrophages	Lymphocytes	PNN	PNE	Cellules épithéliales	Mastocytes
<b>Rebar 1980 (40)</b>	> 95 %	< 1%	< 5 %	< 1 %	< 1 %	< 1 %
<b>Brown 1983 (6)</b>	50,5%	46%	3,5%	NP	NP	NP
<b>Kuehn 1987 (19)</b>	70 +/- 11% (49 à 93%)	7 +/- 5% (1 à 19%)	5 +/- 5% (1 à 27%)	6 +/- 5% (0 à 19%)	1 +/- 1% (0 à 12%)	1 +/- 1% (0 à 5%)
<b>King 1988 (19)</b>	81%	6%	5%	4%	Autres < 4%	
<b>Hawkins 1990 (19)</b>	78%	7%	5%	6%	1%	1%
<b>Mayer 1990 (31)</b>	46,8 à 56,9%	28,5 à 37,4%	1,2 à 1,6%	NP	10,4 à 17,8%	NP
<b>Cadoré 1994 (7)</b>	70 +/- 11%	7 +/- 5%	5 +/- 5%	6 +/- 5%	Autres < 2%	
<b>Vail 1995 (45)</b>	79,4%	13,5%	0,6%	3,6%	0,8%	2,1%
<b>Hawkins 1999 (18)</b>	71 à 88 %	2 à 4 %	7 à 25 %	1 à 2 %	NP	NP

Globalement, il est important de retenir que la cellule majoritaire est le macrophage alvéolaire lorsque le prélèvement a bien été réalisé en profondeur ; les cellules inflammatoires et immunitaires sont minoritaires. Il est intéressant de constater que ces comptages différentiels sont tout à fait comparables à ceux qui sont obtenus chez les patients humains non fumeurs. La variabilité importante entre ces résultats montre à quel point il est nécessaire de chercher à uniformiser le plus possible les procédures de déroulement du lavage transtrachéal afin de disposer de ses propres valeurs de références et d'éviter d'utiliser ce qui est décrit dans la littérature (46).

Outre la variabilité inhérente aux conditions de prélèvement, aux différences interindividuelles, il existe également de très nombreux facteurs non pathologiques qui

entraînent des modifications dans la morphologie ou la numération des cellules. Ils sont importants à connaître car ils permettent d'éviter d'établir des conclusions erronées à partir de l'analyse cytologique. Parmi ceux-ci les plus fréquents sont :

- l'utilisation de médicaments comme les anti-inflammatoires stéroïdiens ont tendance à diminuer le nombre de polynucléaires éosinophiles présents sur le frottis,
- un liquide de lavage particulièrement riche en protéines (par exemple quand le mucus y est abondant) est à l'origine de regroupements cellulaires qui peuvent gêner leur identification (33),
- à l'inverse, un liquide très pauvre en protéines est à l'origine d'une grande fragilité cellulaire ce qui gêne la lecture du frottis,
- des lavages répétés avec des solutés salés provoquent un afflux de polynucléaires neutrophiles qui se retrouvent en grand nombre dans les prélèvements collectés pendant au moins 48 heures (27),
- une aspiration brutale, de même que des manipulations du cathéter traumatisantes peuvent entraîner un nombre élevé de cellules épithéliales présentes sur le frottis (27),
- de la même façon, des hémorragies iatrogènes sont à l'origine de contamination sanguine et doivent impérativement être différenciées d'une hémorragie pathologique,
- l'ordre dans lequel les prélèvements ont été récoltés joue également un rôle dans la numération des cellules : en effet, le premier aliquote est plus riche en cellules épithéliales et les prélèvements suivants, plus représentatifs du contenu bronchique, ont aussi tendance à présenter davantage de polynucléaires neutrophiles et moins de lymphocytes (42).

En ce qui concerne le suivi des patients sur le long terme, une étude récente a montré que la répétition des lavages (réalisés par contrôle endoscopique) n'entraînait aucune modification du nombre relatif des cellules si les prélèvements étaient séparés de cinq à sept semaines (38).

## **PARTIE 3 - Interprétation cytologique**

### **1 / Phénomènes inflammatoires**

De manière générale, ils sont caractérisés par une augmentation du nombre de cellules inflammatoires (polynucléaires neutrophiles ; macrophages ; lymphocytes) et par des modifications morphologiques de ces populations. L'inflammation éosinophilique est



considérée à part car sa présence donne lieu à une interprétation catégoriquement différente et constitue une entité pathologique particulière.

De plus, les inflammations chroniques provoquent des modifications des cellules épithéliales dont il est bon de bien connaître les caractéristiques afin de ne pas les confondre avec des phénomènes tumoraux.

## **a / Inflammation neutrophilique**

De manière caricaturale, elle correspond au stade aigu de l'inflammation. Elle peut survenir suite à tout phénomène irritatif ou septique (19).

### **1. Phénomène non septique**

Ce type de réaction inflammatoire est caractérisé par une neutrophilie nette sur le frottis, mais les cellules ne présentent pas de signe de dégénérescence, leur cytoplasme est donc transparent et leur noyau reste bien motté. Il concerne les infections non bactériennes et non virales comme certaines atteintes fongiques, les rickettsioses et les protozooses ; il est également rencontré dans les bronchites chroniques non surinfectées et lorsque le patient a subi plusieurs lavages répétés avec des solutés salés (11). De manière plus générale, il est rencontré lors de tout phénomène irritatif : inhalation d'agents toxiques ou irritants ou processus néoplasique (30).

Il est intéressant de noter que la bronchite chronique est souvent caractérisée par un prélèvement riche en mucus et que l'inflammation qui l'accompagne est le plus souvent mixte : des lymphocytes, des polynucléaires éosinophiles et surtout une augmentation du nombre de cellules épithéliales sont fréquemment rencontrés en parallèle de la neutrophilie (10). De plus, ces phénomènes chroniques se manifestent souvent par la présence de spirales de Curshmann, signes d'obstructions bronchiolaires (30).

### **2. Phénomène septique (purulent)**

Il est rencontré dans différents cas de figure : la broncho-pneumonie ou pneumonie bactérienne, la pneumonie par fausse route, les surinfections bactériennes consécutives à une affection primaire : néoplasie, maladie virale ou parasitaire, bronchite chronique ou allergique... (28) ainsi que les abcès pulmonaires (11).

Dans le cas d'une pneumonie par fausse route, la présence d'aliments dans le tractus respiratoire est responsable d'un afflux de macrophages réactifs qui accompagnent la neutrophilie et conduit à une inflammation pyogranulomateuse. L'acidité du pH du contenu digestif provoque aussi des phénomènes irritatifs caractérisés par de nombreuses hématies et des cellules épithéliales dégénérées (39).

## ➔ ASPECT CYTOLOGIQUE

Les phénomènes septiques provoquent le plus souvent une inflammation purulente, caractérisée par une augmentation du nombre de polynucléaires neutrophiles et par leur aspect «dégénéré» ou plus ou moins en voie de lyse (40), sur un fond de frottis caractéristique de par sa teinte éosinophile (12).

Ainsi, les noyaux cellulaires peuvent être picnotiques (condensés à l'extrême), caryorectiques (fragmentés) ou caryolytiques (turgescents) et leur aspect plus clair indique une lyse imminente. De plus, il n'est pas rare d'observer des polynucléaires neutrophiles en train de phagocyter des débris cellulaires, voire des bactéries ; des filaments de chromatine dégénérée sont parfois retrouvés sur un frottis déjà encombré d'éléments de nécrose (30).

Il est important de noter que la découverte de ce type de réaction inflammatoire doit inciter le cytologiste à envisager un phénomène septique et à rechercher minutieusement la présence de bactéries qu'elles soient libres ou en position intracellulaire (11).

## ➔ INTERPRETATION

En première intention, il semble que la mise en évidence de germes sur un frottis de lavage broncho-alvéolaire suffise à elle seule pour conclure quant à l'étiologie de la pathologie mise en cause. Or, il s'avère qu'il peut s'agir d'une source d'erreur dans l'interprétation cytologique (19). En effet, une étude réalisée en 1984 a permis de démontrer que l'arbre trachéo-bronchique des chiens sains n'était pas toujours un milieu stérile : des cultures bactériennes effectuées à partir de liquide de lavage broncho-alvéolaire prélevé stérilement après intubation endotrachéale n'étaient négatives que dans 63.6 % des cas et le

plus souvent (80%), les bactéries isolées étaient identiques à celles qui étaient mises en évidence dans la région pharyngée. Ceci incite à rester extrêmement prudent devant l'interprétation des examens bactériologiques effectués sur le liquide de lavage broncho-alvéolaire (29).

A ce sujet, Peeters et ses collaborateurs soulignent la difficulté à mettre en évidence une infection de l'appareil respiratoire profond (36). Les auteurs proposent alors de réaliser des cultures bactériennes quantitatives et de fixer des seuils de positivité afin de ne pas conclure à un phénomène infectieux face à la mise en évidence d'un agent opportuniste dont la croissance est nettement moins importante : la valeur ainsi déterminée ( $1,7.10^3$  CFU/mL de liquide) est plutôt basse, ce qui diminue considérablement le nombre de faux négatifs mais a tendance à faire augmenter le nombre de faux positifs. En d'autres termes, la sensibilité est très élevée, tandis que la spécificité est moyenne. Or, les faux positifs sont essentiellement liés aux méthodes de prélèvement (dans l'étude citée, il s'agissait de la technique par endoscopie qui présente un risque important de contamination oro-pharyngée lorsque le bronchoscope est introduit dans l'arbre respiratoire, risque qui diminue considérablement avec la méthode de prélèvement transtrachéal). Une autre source non négligeable de faux positifs est représentée par les délais de traitement et les conditions de transport (température, stérilité du récipient...) séparant la récupération du spécimen et la réalisation de l'examen bactériologique. Pour cela, la lecture du frottis est nécessaire afin d'exclure d'une analyse bactériologique tout prélèvement suspect de contamination oro-pharyngée et les délais précédant la mise en culture doivent être aussi brefs que possible. En terme d'interprétation cytologique, la notion de seuil reviendrait à considérer le prélèvement comme septique lorsqu'au moins deux germes intracellulaires sont identifiés sur un étalement de liquide de lavage broncho-alvéolaire dont la concentration en cellules nucléées est d'environ 1000/ $\mu$ L ; avec cette limite, la sensibilité est de 71% et la spécificité de 97% (36).

## ➔ AGENTS ETIOLOGIQUES

Tous les auteurs, s'accordent pour affirmer que la majorité des agents infectieux isolés dans ces phénomènes septiques sont des bacilles Gram négatif (1, 11, 36 et 39) : il s'agit d'Entérobactéries (*Escherichia coli* ; *Klebsiella pneumoniae*...) pour un peu moins de la moitié des cas tandis que plus de 60% des germes isolés sont représentés par des Pasteurelles, des Streptocoques, des bactéries anaérobies obligatoires et *Bordetella bronchiseptica*.

Cette grande variété de germes met en évidence le caractère imprévisible de l'infection (1). C'est la raison pour laquelle la cytologie peut être une aide intéressante pour le choix

d'une antibiothérapie raisonnée avant de disposer des résultats bactériologiques : en effet, les Entérobactéries Gram négative qui sont le plus souvent impliquées dans les infections respiratoires sont reconnaissables sur le frottis car ce sont des bacilles (en forme de bâtonnets isolés ou attachés en chaînette) ; en revanche, la mise en évidence de coques (formes rondes, souvent liées deux par deux) doit évoquer plus souvent un phénomène septique dû à des *Staphylocoques* ou des *Streptocoques* Gram positif (11 et 39). Enfin il serait même possible de suspecter la présence d'une population à germes anaérobies obligatoires qui est mise en cause dans 21.6% des cas ; ceci représente un intérêt majeur car leur spectre antibiotique est particulier puisqu'ils sont sensibles au métronidazole, au chloramphénicol et à l'association amoxicilline-acide clavulanique, qu'ils n'ont qu'une sensibilité partielle (80 à 90%) à l'ampicilline, qu'ils sont intermédiaires pour l'association triméthoprime-sulfamide et surtout résistants à l'enrofloxacin et à la gentamicine. Ainsi, les prélèvements contaminés par des germes anaérobies sont souvent malodorants et certaines caractéristiques cytologiques sont fortement évocatrices de ce type de bactéries :

- les Bactéroïdes sont des bacilles Gram négatif à l'aspect déformé,
- les bactéries du genre *Fusobacterium* sont des bacilles fins aux extrémités pointues.

De plus, ces germes prennent une coloration rose pâle à la coloration de Gram (1).

Le plus souvent, une seule population bactérienne est isolée (63% d'après 32 ; 57% selon 1). Les infections mixtes peuvent représenter une difficulté thérapeutique car le spectre antibiotique doit être efficace sur l'ensemble des bactéries identifiées (36) ; elles se rencontrent surtout dans les (broncho)-pneumonie par fausse déglutition ou par corps étranger (28 et 39).

Ainsi, le lavage transtrachéal, est un outil essentiel pour explorer une suspicion de (broncho)-pneumonie et notamment en cas de bronchite chronique où les surinfections bactériennes ne sont pas rares, en raison des modifications de l'appareil mucociliaire et du développement de bronchiectasie, et peuvent être une contre-indication à l'utilisation d'une corticothérapie. Ceci doit également permettre de mettre en place une antibiothérapie raisonnée c'est à dire seulement quand cela est justifié et en ciblant le type de bactérie mis en évidence sur le frottis. En effet, les antibiothérapies au long court ainsi que les antibioprophylaxies inadaptées sont de plus en plus désignées comme étant responsables de l'apparition de multirésistances (36). Les auteurs s'accordent pour souligner l'importance des examens bactériologiques en parallèle de la cytologie, d'une part parce qu'ils sont plus sensibles pour mettre en évidence des bactéries et d'autre part parce que certains germes comme *Escherichia coli* peuvent être particulièrement résistants à de nombreux antibiotiques.

En résumé, l'examen cytologique est un outil indispensable pour interpréter les résultats des analyses microbiologiques car il permet d'écartier les prélèvements contaminés par la sphère oropharyngée et l'observation de polynucléaires neutrophiles dégénérés et de bactéries intracytoplasmiques confirme l'hypothèse de contamination bactérienne. Toutefois, il est important de se rappeler que ces phénomènes septiques peuvent survenir en complication d'autres pathologies telles que des tumeurs pulmonaires. Il est donc nécessaire de toujours prendre en compte ces résultats en fonction du contexte épidémio-clinique, ainsi que des autres examens complémentaires comme la radiographie thoracique.

### **b/ Inflammation granulomateuse (macrophagique)**

Elle est caractéristique des phénomènes inflammatoires chroniques. Or, chez le chien sain, le macrophage alvéolaire est largement majoritaire (au moins 95 % de la population cellulaire), il est donc essentiel de reconnaître les cellules réactives (cellules parfois géantes, pouvant être multinucléées, au cytoplasme vacuolé contenant des éléments de phagocytose) pour conclure à des phénomènes pathologiques. De plus, dans ces réactions inflammatoires, la cellularité est quasiment toujours augmentée (33).

### **➔ ASPECT CYTOLOGIQUE**

Outre l'augmentation du nombre de macrophages alvéolaires activés, les autres cellules inflammatoires sont fréquemment bien représentées ; ainsi, il est possible de distinguer :

- l'inflammation chronique active dans laquelle il existe une neutrophilie assez marquée ; elle est qualifiée également de pyogranulomateuse et accompagne en général les infections fongiques (exceptionnelles dans les pays européens mais rencontrées occasionnellement en cas d'immunodépression ou lors d'infection secondaire à des maladies virales comme la maladie de Carré ou à des pathologies tumorales) et les broncho-pneumonies par fausse déglutition (39),
- l'inflammation chronique qui est une réaction mixte où les macrophages sont largement prédominants par rapport à une population polymorphe de polynucléaires neutrophiles, lymphocytes, plasmocytes et d'éventuels polynucléaires éosinophiles (16 et 28).

### **➔ INTERPRETATION**

Ce type d'inflammation n'est absolument pas spécifique d'une cause et un diagnostic différentiel doit inclure tout phénomène infectieux (bactérien, fongique ou parasitaire), en voie de guérison, des manifestations septiques atypiques, l'insuffisance cardiaque gauche, le parasitisme cardiaque, les tumeurs, les torsions de lobe pulmonaire, les pneumonies par fausse déglutition, la pneumonie lipidique, les thrombo-embolies (16) et la bronchite chronique non spécifique (liée à des irritations par la fumée de cigarette ou la pollution urbaine).

La mise en évidence de ces anomalies cytologiques doit motiver la recherche minutieuse d'organismes étrangers, notamment fongiques (voir tableau ci-dessous) ou de cellules atypiques (16 et 19). De plus, des signes d'anthracose où les macrophages ont phagocyté des gros granules noirs peuvent évoquer l'existence d'une sensibilité à la pollution urbaine, à la fumée ou encore à la suie de cheminée (16 et 30).

**Fig 8 : Principales affections fongiques rencontrées en Amérique du Nord (35)**

DENOMINATION	DESCRIPTION	PATHOGENIE
Blastomyces dermatidis	Forme arrondie de 5 à 20 µm de diamètre. Structure basophile aux parois épaisses. Bourgeons à point de départ central.	Pénétration par les voies respiratoires : les poumons sont les premières structures atteintes avant dissémination vers les autres organes. Plus facile à mettre en évidence par ponction trans-thoracique en tout début d'infestation (localisation interstitielle).
Histoplasma	Levures arrondies à ovales de 2 à	Peut se manifester par une

capsulatum	4 µm de diamètre. Centre basophile souligné par un halo clair et fin. Parfois retrouvés à l'intérieur des macrophages.	maladie respiratoire de gravité modérée ou par une atteinte multisystémique plus grave.
Coccidioides immitis	Sphérules de 10 à 80 µm de diamètre. Double paroi épaisse contenant de nombreuses spores de 2 à 5 µm de diamètre.	Maladie présente dans le sud-est des Etats –Unis et dans les pays situés plus au sud. Forme respiratoire pure ou disséminée si immunodépression

### c / Réaction lymphocytaire

#### ➔ ASPECT CYTOLOGIQUE

Lorsqu'elle est isolée, elle n'est pas fréquente (*30 et 33*). Sur le frottis, il est possible de distinguer une augmentation du nombre de lymphocytes mais surtout, de leur aspect réactif : ainsi, il n'est pas rare d'observer un nombre important de plasmocytes, stade ultime de la différenciation lymphocytaire (*16 et 30*).

#### ➔ INTERPRETATION

Une élévation du pourcentage de cellules lymphoïdes est très peu spécifique d'une pathologie mais peut orienter le clinicien vers une étiologie infectieuse virale ou rickettsienne ou tout type d'inflammation plus ou moins chronique, allergique ou non infectieuse (*30 et 33*). Toutefois, une hypothèse de lymphome doit toujours préalablement être écartée (*16 et 30*).

Il est à noter que les maladies virales sont accompagnées de réactions inflammatoires mixtes dominées le plus souvent par une lymphocytose et qu'il est théoriquement possible de mettre en évidence des inclusions dans les macrophages, les lymphocytes ou les cellules épithéliales (*40*) :

- pour le virus de la maladie de Carré, il s'agit de plages éosinophiliques de taille et de forme variables qui peuvent être en position intracytoplasmique ou intranucléaire,
- pour les Adénovirus, ce sont de grandes inclusions rondes intranucléaires qui occupent tout le noyau ou se retrouvent en position centrale cernées d'un fin liseré de chromatine excentrée. Elles sont plus facilement mises en évidence avec la coloration de Papanicolaou.

## **d / Altérations inflammatoires des cellules épithéliales**

### **➔ ASPECT CYTOLOGIQUE**

Elles sont importantes à connaître car elles ne doivent pas être confondues avec des processus néoplasiques. Le premier stade de modification est l'hyperplasie cellulaire qui est caractérisée du point de vue cytologique par la présence d'amas irréguliers et désordonnés de cellules épithéliales bronchiques ; les noyaux ont un contour bien arrondi et apparaissent plus clairs car leur chromatine n'est plus organisée en mottes ; le cytoplasme devient moins abondant ; les cils sont également moins nombreux. Une forme particulière d'hyperplasie peut laisser apparaître des structures en pseudopapilles qui consistent en des agrégats de cellules à mucus non ciliées, alignées en rangées et dont les noyaux, localisés en position basale, ne présentent aucun signe d'atypie. Il est important de souligner que la présence de cils et d'un cytoplasme encore abondant sont les signes de lésions bénignes (30).

L'évolution cytologique d'une irritation chronique est la métaplasie : l'organisme s'adapte en développant un épithélium stratifié squameux au niveau de la trachée, des bronches ou des bronchioles (11) ; les cellules présentent un cytoplasme polyédrique coloré intensément et régulièrement qui peut prendre un aspect « vitreux » ; elles peuvent s'organiser en « rayons de miel » lorsqu'elles sont adhérentes entre elles. L'aspect normal de ces cellules qui sont parfois en voie de picnose permet d'écarter des lésions précancéreuses (30).

### **➔ INTERPRETATION**

Les phénomènes d'hyperplasie cellulaires sont rencontrés essentiellement dans les inflammations chroniques de type broncho-pneumonie chronique, phénomène de fibrose pulmonaire ou en complication de bronchiolite (30).

Les images de métaplasie bronchique accompagnent diverses affections comme les pneumonies, les infarcti pulmonaires, les abcès pulmonaires en voie de guérison, l'emphysème, la tuberculose, les carcinomes pulmonaires (30) mais également les formes sévères de bronchite chronique.



## **2 / Réactions d'hypersensibilité**

### **➔ ASPECT CYTOLOGIQUE**

Elles sont caractérisées par une augmentation relative, parfois très importante du nombre de polynucléaires éosinophiles (au-delà de 6% pour 28 et 10% pour 11 et 30) et plus rarement par la présence de mastocytes (40 et 28). Toutefois il est possible de retrouver un nombre élevé d'autres cellules inflammatoires : polynucléaires neutrophiles, macrophages alvéolaires différenciés ou lymphocytes (33), suite à l'irritation du tissu pulmonaire (11).

Lorsque le phénomène est chronique, des amas de cellules épithéliales bronchiques marquant une hyperplasie de l'épithélium respiratoire peuvent être mis en évidence (40).

### **➔ INTERPRETATION**

L'inflammation éosinophilique accompagne tous les phénomènes d'hypersensibilité : ainsi, il est possible d'évoquer une bronchite ou pneumonie allergique ou encore une maladie parasitaire lorsque des agents étiologiques (grains de pollen ou larve de parasite) sont mis en évidence (33) ; toutefois, ces phénomènes d'hypersensibilité ont également été décrit de façon plus occasionnelle en cas de phénomènes infectieux non parasitaires, qu'ils soient bactériens et surtout fongiques (28). Dans le cas où aucun agent étiologique n'est mis en évidence ou suspecté, l'expression générale d'infiltration pulmonaire éosinophilique sera préférée. Il est à noter que les races nordiques (Alaskan Malamute et Siberian Husky) sont prédisposées pour ces pathologies et peuvent développer une forme particulière qui est la granulomatose éosinophilique, maladie nodulaire très grave accompagnée de lésions radiographiques très sévères et qui serait un stade ultime de cette maladie. Les mécanismes impliqués sont des phénomènes d'hypersensibilité de type I (réaction immédiate) essentiellement, mais les autres types (II, III et IV) semblent également jouer un rôle. Les animaux prédisposés sont d'ailleurs des jeunes adultes, un âge qui est comparable à celui de l'apparition des dermatites atopiques qui mettent aussi en jeu une réaction de type I (9). Les polynucléaires éosinophiles jouent d'ailleurs un rôle important dans la pathogénie de l'asthme bronchique en induisant des effets délétères sur l'épithélium bronchique par dégranulation en dessous de la membrane basale. Il n'est pas possible de différencier cytologiquement asthme bronchique et bronchite

éosinophilique car dans le premier cas il existe une hyperréactivité respiratoire qui est mise en évidence seulement par les tests de fonction pulmonaire (28).

Par ailleurs, l'hyperéosinophilie respiratoire peut être une forme de syndrome paranéoplasique accompagnant certaines tumeurs comme le mastocytome, le lymphome malin ou les carcinomes (28).

Quoi qu'il en soit, il semblerait que qualifier systématiquement une inflammation éosinophilique de phénomène d'hypersensibilité respiratoire en l'absence d'agents étiologiques soit un peu abusif : en effet, des chiens indemnes de signes respiratoires peuvent présenter une éosinophilie marquée sur le liquide de lavage broncho-alvéolaire. Divers mécanismes semblent être impliqués :

- pour certains de ces animaux des troubles dermatologiques divers de type dermatite allergique aux piqûres de puces pourraient expliquer les anomalies rencontrées (30),
- pour d'autres, il faudrait tenir compte de leur mode d'élevage : en effet une étude a montré que la cellularité et surtout le nombre relatif de polynucléaires éosinophiles du liquide de lavage broncho-alvéolaire prélevé chez des animaux d'origine inconnue était significativement plus élevé (en moyenne 24%) que celui des animaux issus d'élevage (5%) ; les chiens étaient cliniquement sains et parfaitement vermifugés (examens coproscopiques à l'appui) le jour du prélèvement. L'explication qui est proposée est qu'une forte charge parasitaire ancienne pourrait provoquer une éosinophilie respiratoire physiologique persistante car les animaux d'élevage recevaient un traitement antiparasitaire bien plus régulier que les animaux pris au hasard (44),
- une infiltration éosinophilique pulmonaire peut aussi être le signe d'une réaction d'hypersensibilité subclinique (19),
- enfin, une réaction éosinophilique pulmonaire peut être la manifestation d'un parasitisme cardiaque occulte par simple mécanisme à médiation immune (19 et 40).

Par ailleurs, il peut être difficile de distinguer une bronchite chronique idiopathique dans laquelle une éosinophilie non spécifique est présente d'une bronchite allergique souvent accompagnée d'une neutrophilie respiratoire en raison de l'irritation des tissus, mais certains critères cliniques sont un bon moyen d'orientation : en effet, le phénomène allergique est le plus souvent responsable d'une toux saisonnière (ce qui est d'ailleurs évocateur d'une sensibilité à des antigènes environnementaux) et la réponse au traitement anti-inflammatoire est particulièrement spectaculaire (35).

De même, la radiographie thoracique peut aider le clinicien à orienter son diagnostic : en effet, la pneumonie allergique a tendance à se manifester par des images en réseaux, c'est-

à-dire de type interstitiel, tandis que le parasitisme respiratoire provoquera des lésions multifocales ou nodulaires (40) ; la pneumonie allergique liée à un parasitisme cardiaque occulte a tendance quant à elle à engendrer des lésions diffuses interstitielles ou de comblement alvéolaire essentiellement localisées au niveau des lobes caudaux.

## ➔ AGENTS ETIOLOGIQUES

De manière générale, la découverte d'une éosinophilie respiratoire doit inciter le cytologiste à examiner le frottis très minutieusement à faible grossissement afin d'y mettre en évidence des microorganismes (11 et 33).

Parmi les maladies parasitaires qui peuvent provoquer une inflammation éosinophilique respiratoire, on rencontre :

- des parasitoses cardio-vasculaires :

→ la dirofilariose impliquant *Dirofilaria immitis* : il est alors possible d'identifier des microfilaires sur le frottis du liquide de lavage broncho-alvéolaire, sinon les clichés radiographiques du thorax, la mise en évidence de microfilaires circulantes ainsi que la réalisation de sérologies sont une aide au diagnostic (8)

→ l'infestation par *Angyostrongylus vasorum* dont l'adulte mesure 2,5 cm de long et se localise dans une artère pulmonaire ou dans le ventricule droit. Les larves migrent à travers le parenchyme pulmonaire avant d'être expectorées et avalées, elles peuvent être identifiées sur le frottis du lavage transtrachéal grâce à leur aspect caractéristique de bouton céphalique prolongé par une queue ondulée. Les manifestations cliniques sont de type cardio-vasculaire et respiratoire : toux avec ou sans hémoptysie, thromboses, hémorragies, insuffisance cardiaque gauche (17)

- le parasitisme pulmonaire :

→ *Filaroides hirthi* se localise dans les alvéoles et les bronchioles respiratoires et ce sont les œufs embryonnés de 50µm de large et 80 µm de long ainsi que les larves que l'on retrouve sur le frottis ; cette infestation ne provoque que très rarement des signes cliniques ; les adultes vivants n'induisent qu'une réaction minimale de la part de l'hôte mais une inflammation éosinophilique peut se développer autour des formes matures dégénérées ou mortes. Les larves sont assez aisément identifiables avec leur queue enroulée en boucle.

→ *Oslerus (Filaroides) osleri* est un nématode peu fréquent qui provoque l'apparition de nodules au niveau de la trachée distale et des bronches ; ce parasite peut entraîner une toux paroxysmique et de la dyspnée ; les œufs et les larves retrouvés sur le frottis ne peuvent pas

être différenciés de ceux et celles de *Filaroides hirthi* et c'est alors la présence des nodules qui permet de conclure.

→ *Capillaria aerophila* est un nématode situé dans la trachée et les bronches ainsi que dans les cavités nasales des carnivores domestiques ; les infestations modérées sont asymptomatiques mais les infestations intenses peuvent conduire à une toux chronique et à des épisodes de dyspnée intermittente ; les œufs pigmentés à paroi épaisse, plus petits que ceux des Trichures (60 à 80 µm sur 30 à 40 µm) sont caractéristiques (33 et 39).

→ *Crenosoma vulpis* est un parasite rare dont la forme adulte est localisée dans le tractus respiratoire (bronches, bronchioles et parfois trachée). Les larves sont expectorées et avalées, elles se distinguent du type *Filaroides* par la forme droite de leur queue (17).

- les helminthes digestifs :

→ les larva migrans de *Toxocara canis* peuvent se localiser dans les poumons des animaux les plus jeunes (chiots de moins de six mois, quasiment systématiquement chez les moins de trois mois) et même des adultes les plus sensibles (15% de la population selon une étude récente) : en effet, après contamination par ingestion d'œufs, les larves apparaissent dans l'intestin grêle, franchissent la paroi digestive, atteignent le foie, puis les poumons après transit par la vascularisation porte avant de disséminer dans d'autres organes. Les trajets de migration s'accompagnent de nécrose tissulaire et les larves de 400 µm de long s'enkystent dans des granulomes éosinophiliques. Les manifestations cliniques apparaissent selon le mode aigu ou chronique (24).

→ les larves à crochets d'*Ankylostoma caninum* peuvent infester leur hôte par voie transcutanée et effectuer des migrations au niveau de l'arbre aérifère et plus précisément dans la trachée (24).

Ce sont essentiellement des examens coproscopiques parasitaires qui permettent d'établir le diagnostic de ces helminthoses digestives.

### **3 / Hémorragie pulmonaire**

#### **➡ ASPECT CYTOLOGIQUE**

L'hémorragie pulmonaire se traduit en premier lieu par une augmentation nette du nombre de globules rouges sur le frottis. Il se pose alors la question de savoir si le saignement est directement lié à la technique de prélèvement ou s'il a une réelle valeur pathologique ; pour cela, la présence d'une érythrophagocytose intense peut être un indice précieux car la mise en évidence de globules rouges phagocytés par les macrophages alvéolaires est la preuve

d'une hémorragie qui est bien antérieure au moment du lavage transtrachéal. De plus, d'autres éléments provenant de la dégradation des hématies à l'intérieur des macrophages alvéolaires peuvent être observés et sont d'autant plus abondants que le saignement est ancien : des pigments brun verdâtre à noirâtres d'hémosiderrine qu'il est important de ne pas confondre avec des particules de carbone (anthracose), liées le plus souvent à la pollution urbaine, et des cristaux de couleur jaune à ocre d'héματοïdine (11, 19, 28, 30 et 33). Enfin, l'irritation tissulaire consécutive aux hémorragies pulmonaires s'accompagne systématiquement de réactions inflammatoires qui sont plutôt chroniques (19, 28 et 33).

De plus, la coloration de Perls ou de bleu Russe peut aider le cytologiste à mettre en évidence la présence de fer (issu de la dégradation de l'hémoglobine) à l'intérieur des macrophages alvéolaires (28).

## ➔ ETIOLOGIE

La découverte d'une hémorragie pulmonaire n'est en rien spécifique d'une anomalie mais elle est toujours pathologique quand elle n'est pas d'origine iatrogène (30). Elle est toutefois assez rare et peut accompagner :

→ des affections purement respiratoires comme les traumatismes du parenchyme pulmonaire, les torsions de lobes, les maladies infectieuses sévères (bactériennes, fongiques ou virales), les tumeurs primitives du poumon (11), les corps étrangers en migration (11, 19, 28 et 30) et les broncho-pneumonies par fausse route (28),

→ des affections non respiratoires comme l'insuffisance cardiaque congestive, les manifestations de thrombo-embolie pulmonaire, les troubles de l'hémostase, les infarcti consécutifs au parasitisme cardiaque (ou à son traitement), les néoplasies métastatiques (11) et l'hypertension pulmonaire sévère pouvant survenir notamment en cas de dirofilariose.

## **4 / Phénomène tumoral**

### **a / Tumeurs épithéliales primitives ou métastatiques**

Les tumeurs primitives pulmonaires sont extrêmement rares : les carcinomes primitifs concernent essentiellement des chiens âgés (en moyenne 9 ans) sans prédisposition particulière de sexe ou de race. Un diagnostic précoce est intéressant pour une éventuelle décision thérapeutique, mais peut être difficile à établir car les signes cliniques se manifestent

souvent à distance (mauvais état général, amaigrissement, syndrome de Cadiot-Ball) et les troubles respiratoires apparaissent tardivement.

Le carcinome est la tumeur primitive pulmonaire la plus fréquemment rencontrée, comparée aux fibrosarcomes (souvent associés à l'infestation par *Spirocerca lupi*), aux ostéosarcomes, aux chondrosarcomes, aux hémangiosarcomes ou aux adénomes qui restent exceptionnels. Ce processus cancéreux prend son origine à partir de l'épithélium, il est ainsi possible de distinguer (13) :

- les adénocarcinomes qui sont largement majoritaires (70 à 80%) et dont le point de départ est l'épithélium glandulaire,
- les carcinomes à cellules squameuses ou carcinomes épidermoïdes dont l'origine est l'épithélium malpighien,
- les carcinomes anaplasiques ou à cellules indifférenciées qui ont perdu les caractères malpighien ou glandulaire d'origine.

Il est possible de réaliser un diagnostic cytologique de carcinome pulmonaire primitif ou métastatique, mais cela pose un certain nombre de difficultés :

- en effet, les tumeurs métastatiques se développent préférentiellement au niveau du tissu interstitiel, il est donc important de se poser la question de la représentativité de l'échantillon qui est plutôt le reflet des anomalies broncho-alvéolaires (16),
- le diagnostic en lui-même représente une difficulté majeure car il n'est pas toujours facile de différencier des cellules épithéliales tumorales de cellules hyperplasiques. Il peut alors être nécessaire de recourir à un examen histologique beaucoup plus invasif (16 et 33),
- il est souvent impossible de différencier cytologiquement carcinome primitif et métastase et ce sont les données cliniques et radiographiques qui peuvent parfois permettre de trancher (40).

## ➔ ASPECT CYTOLOGIQUE

Tout d'abord, il semble important de bien connaître les différents processus de modification morphologique des cellules épithéliales : en effet, l'hyperplasie et la métaplasie sont considérées comme des altérations inflammatoires, tandis que la dysplasie est une lésion intermédiaire entre un phénomène réactif et un phénomène néoplasique ; en d'autres termes il pourrait s'agir d'une modification précancéreuse, voire même d'un carcinome in situ (11 et 30). L'observation de cellules a priori atypiques doit inciter le cytologiste à examiner très minutieusement les frottis afin d'y déceler des critères de malignité.

A grossissement moyen (200), les cellules carcinomateuses apparaissent isolées ou en amas, elles sont de forme arrondie à polygonale (40) ou même cuboïde (39) ; une anisocytose et une anisocaryose marquées sont souvent présentes (11). Le cytoplasme, parfois vacuolé, est très basophile si bien que le noyau peut être difficile à visualiser (40). Des figures de mitose sont éventuellement observées (39). Le rapport nucléo-cytoplasmique est variable à très élevé (11).

Un examen plus minutieux du frottis peut permettre de différencier (13) :

- L'adénocarcinome pour lequel la desquamation peut être massive et les amas cellulaires reproduisent la disposition glandulaire d'origine avec des canalicules (forme de tube) et des acini (forme de «boules»). Le cytoplasme est souvent très vacuolé et le noyau déplacé par l'accumulation de mucine (qui est positive à la réaction au PAS). La chromatine est finement granuleuse ce qui laisse apparaître quelques nucléoles plus ou moins centraux.
- Le carcinome épidermoïde pour lequel la desquamation est souvent plus discrète mais s'accompagne d'amas en placards plats, d'aspect pavimenteux, constitués de cellules à formes géométriques. Le cytoplasme est souvent abondant, plus ou moins basophile, parfois acidophile, en fonction du degré de kératinisation. La chromatine condensée localement prend un aspect irrégulier et le noyau peut être picnotique.
- Le carcinome anaplasique qui est beaucoup plus rare mais dont la nature épithéliale peut être difficile à identifier. Il en existe deux types : l'un à grandes cellules présentant des atypies majeures (anisocaryose, pléomorphisme, hyperchromatisme...) et l'autre à petites cellules fragiles (nombreux noyaux nus) très basophiles.

## ➔ CONSEQUENCES

Ainsi, le diagnostic de carcinome doit être établi avec beaucoup de précautions : il est facile quand les cellules présentent des critères évidents de malignité en l'absence de signes d'inflammation (33), mais le plus souvent, des phénomènes inflammatoires se surajoutent au fond tumoral, ce qui rend le diagnostic cytologique plus difficile (19) et peut justifier le recours à une biopsie pulmonaire (28).

Une étude réalisée en médecine humaine s'est intéressée particulièrement à l'intérêt de l'examen cytologique dans le diagnostic des carcinomes pulmonaires : il a permis d'établir le bon diagnostic dans 79,1% des cas. Aucun faux positif n'était à déplorer bien que l'épithélium bronchique des patients fût parfois extrêmement réactif en raison essentiellement du tabagisme. Les auteurs soulignent toutefois l'utilité non négligeable de cet examen

complémentaire pour mettre en évidence des surinfections bactériennes et insistent sur sa bonne tolérance chez des individus parfois très débilisés (26).

## **b / Lymphome**

Il s'agit d'une des tumeurs les plus fréquentes chez le chien chez qui ce sont les formes multicentriques qui prédominent (elles représentent 85% des cas). Au contraire de l'homme, il n'existe pas, a priori, de formes primitivement pulmonaires dans l'espèce canine (21) ; les formes respiratoires de lymphome sont donc liées à des infiltrations secondaires du parenchyme pulmonaire à partir des formations lymphoïdes tumorales (21 et 49).

Il est bon de savoir que dans ce domaine, les examens radiographiques sont peu sensibles et peu spécifiques. En effet, ils mettent en évidence une infiltration pulmonaire pour un tiers des chiens atteints de lymphome contre deux tiers de formes respiratoires détectées grâce aux prélèvements cytologiques obtenus après lavage ; ceci est lié au fait que les nodules métastatiques sont visibles lorsque leur diamètre est supérieur à celui des vaisseaux qui se trouvent dans leur zone (en principe il doit être supérieur à 3-5 mm, voire même supérieur à 5-10 mm en région péri-hilaire), il est possible également de les repérer facilement quand ils sont extrêmement nombreux, de telle sorte qu'ils donnent des infiltrations miliaires sur les clichés radiographiques de l'aire pulmonaire. Par ailleurs, les images interstitielles et de comblement alvéolaire ne sont pas non plus spécifiques puisqu'elles peuvent être rencontrées aussi bien en cas d'infiltration lymphomateuse qu'en cas de fibrose liée à l'âge, de phénomènes à médiation immune, d'origine infectieuse, bactérienne, fongique ou parasitaire ou d'autres manifestations locales : œdème, inflammation, hémorragie...(21).

La fiabilité des résultats obtenus par le lavage transtrachéal suppose que le prélèvement soit bien représentatif des voies respiratoires profondes car les lymphocytes sont récupérés au niveau des alvéoles pulmonaires (21 et 49).

### **➡ ASPECT CYTOLOGIQUE**

Un diagnostic différentiel est à faire d'avec une réaction lymphoïde non spécifique qui est très souvent accompagnée d'une inflammation mixte et dans laquelle les lymphocytes sont présents à tous les stades de différenciation. Dans le cas d'une infiltration lymphomateuse, le cytologiste peut identifier une population monomorphe de cellules blastiques lymphoïdes souvent présentes en très grand nombre (16) : ce sont des cellules bien



rondes, le plus souvent de grande taille et au cytoplasme nettement basophile plus ou moins vacuolé. Les atypies sont fréquentes et caractéristiques : anisocytose et anisocaryose contrastent souvent avec l'homogénéité des colorations cytoplasmiques et nucléaires ; le noyau présente une chromatine dispersée laissant apparaître un ou plusieurs nucléoles parfois extrêmement volumineux ; le rapport nucléo-cytoplasmique est plutôt élevé et les mitoses ne sont pas rares (11).

Le type de lymphome le plus fréquent est la forme centroblastique : les cellules sont alors plutôt de taille moyenne ; le cytoplasme est peu étendu et nettement basophile, il peut laisser apparaître une petite zone décolorée qui représente une ébauche d'archoplasme ; le noyau présente un volume nucléolaire élevé parfois sous forme d'un nucléole central unique ; l'index mitotique est moyen à élevé (13).

## ➔ CONSEQUENCES

Ainsi la réalisation de lavages broncho-alvéolaires chez des patients atteints de lymphome est justifiée car elle permet d'affiner le pronostic, de préjuger de la réponse au traitement, mais également d'adapter la thérapeutique si des surinfections bactériennes ont été mises en évidence au niveau respiratoire. En effet, l'évaluation du stade clinique selon les recommandations de l'O.M.S. qui reposait sur les signes cliniques, les examens hématologiques et radiographiques semblait insuffisante car elle était souvent en discordance avec la réponse au traitement (49). En d'autres termes, le lavage broncho-alvéolaire pourrait tout à fait trouver sa place dans le cadre d'un bilan d'extension sur les chiens atteints de lymphome car il est plus sensible et plus spécifique que l'examen radiographique du thorax. Des études complémentaires seraient nécessaires pour juger de l'importance d'une infiltration pulmonaire.

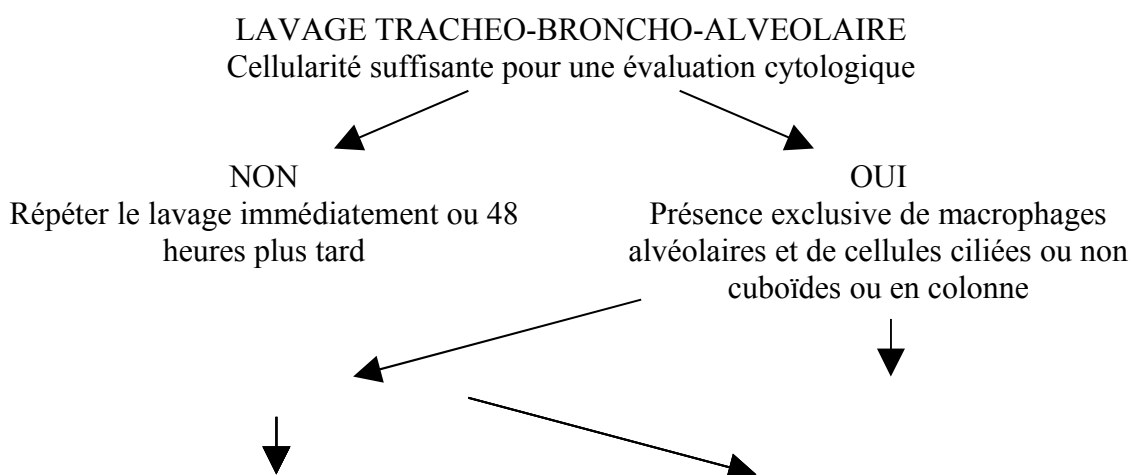
### **c / Autres manifestations tumorales**

Théoriquement il serait possible de mettre en évidence des tumeurs mésenchymateuses du tractus respiratoire (fibrosarcome, chondrosarcome, ostéosarcome, hémangiosarcome...). Cependant, cela reste exceptionnel, d'une part parce qu'il s'agit de phénomènes néoplasiques extrêmement rares et d'autre part parce que ce type de tumeur desquame très peu et il semble alors très peu probable de pouvoir en récupérer dans un lavage broncho-alvéolaire.

De même, il serait possible d'identifier une population histiocytaire tumorale en cas de forme pulmonaire d'histiocytose maligne mais cela est seulement évoqué dans la littérature (28) et cela demeure anecdotique, probablement parce que cette affection est diagnostiquée par d'autres moyens et qu'il est rarement envisagé de réaliser un lavage broncho-alvéolaire sur ces patients.

## PARTIE - 4 Conclusion partielle

Fig 9 : Aide à l'interprétation d'un lavage broncho-alvéolaire (11)



NON Présence de cellules squameuses superficielles et/ou de grandes bactéries ( <i>Simonsiella</i> )	OUI Tous les types de cellules sont normaux Les macrophages peuvent être très nombreux dans certaines affections (pneumonie lipidique)
NON >10% de polynucléaires éosinophiles	OUI Contamination oro-pharyngée Si le prélèvement doit être recommencé, il faut le faire soit immédiatement soit 48 heures plus tard.
NON Augmentation du nombre de polynucléaires neutrophiles	OUI Hypersensibilité (allergique ou parasitaire) ; une neutrophilie secondaire à l'inflammation peut être présente
NON Présence de critères cytologiques de malignité sur la population cellulaire observée	OUI Phénomène inflammatoire, infectieux ou non ; rechercher la présence de micro-organismes (bactériens, fongiques ou protozoaires)
OUI Suspicion de pathologie tumorale à confirmer par un pathologiste	

E. C. Hawkins et ses collaborateurs se sont intéressés à la sensibilité du lavage broncho-alvéolaire en fonction des affections respiratoires diagnostiquées. Il s'est avéré peu efficace pour les tumeurs mésoenchymateuses (sarcomes, mélanome achromique, sarcome histiocytaire), pour les maladies fongiques, pour un cas de pneumonie par fausse route et pour déclarer sain des individus sans affection respiratoire. Au contraire, il a permis assez facilement de mettre en évidence des infections bactériennes et des carcinomes pulmonaires, tandis qu'il a représenté une bonne orientation diagnostique pour les bronchites chroniques, le parasitisme cardiaque, la pneumonie interstitielle, l'insuffisance cardiaque congestive et des cas isolés d'histiocytose, de torsion de lobe et d'emphysème bulleux (20).

Par ailleurs, d'autres auteurs ont comparé l'intérêt de la cytologie du liquide de lavage broncho-alvéolaire par rapport à l'examen radiographique du thorax et à la biopsie pulmonaire. Les conclusions confirment l'efficacité particulière de l'examen cytologique pour

diagnostiquer des infections bactériennes et des phénomènes tumoraux ; toutefois, le plus souvent, il ne permet qu'une orientation du diagnostic ou se contente de mettre en évidence des inflammations non spécifiques sans rapport avec le phénomène pathologique sous-jacent. C'est la raison pour laquelle les résultats doivent toujours être confrontés aux données épidémiocliniques et aux hypothèses suggérées par les autres examens complémentaires (34).

En définitive, l'étude cytologique du liquide de lavage broncho-alvéolaire présente certaines limites qui nécessitent le recours à d'autres examens complémentaires (endoscopie, examen histologique). C'est le plus souvent le cas lorsque la cytologie n'a pas permis de conclure à un processus spécifique tandis que les clichés radiographiques évoquent la présence de lésions de type interstitiel (maladies granulomateuses, tumeurs mésoenchymateuses, abcès...), lorsqu'il n'est pas possible de différencier une inflammation chronique d'un processus tumoral ou en cas de présence d'un corps étranger.

## **Conclusion**

Ainsi, l'étude cytologique du liquide de lavage trachéo-broncho-alvéolaire peut être une aide précieuse dans la démarche diagnostique des affections respiratoires profondes. La technique de prélèvement par voie transtrachéale étant bien supportée par les patients, peu onéreuse, rapide et facile à pratiquer, constitue un geste de première intention incontournable. Toutefois, il reste important de bien connaître les biais qu'implique cet examen, parfois peu représentatif des processus profonds et interstitiels et de rester bien conscient des limites de la

cytologie. A ce sujet, E. C. Hawkins et ses collaborateurs ont réalisé une étude rétrospective pour évaluer l'intérêt de l'examen cytologique du liquide de lavage strictement broncho-alvéolaire : dans un cas sur quatre il permettrait un diagnostic définitif, pour la moitié d'entre eux il serait un bon moyen d'orientation et semble inutile pour le quart restant (20).

Par ailleurs, ce travail s'est intéressé uniquement à l'intérêt de la cytologie du liquide de lavage broncho-alvéolaire, mais un tel prélèvement peu s'avérer utile pour d'autres examens comme des cultures bactériennes (évoquées dans le paragraphe concernant les phénomènes infectieux), la mise en évidence d'ARN étranger par la technique de Polymerase Chain Reaction ou des dosages enzymatiques qui sembleraient pouvoir représenter une aide diagnostique dans un avenir assez proche.

## **BIBLIOGRAPHIE**

**1. ANGUS J. C. ; JANG S. S. ; HIRSH D. C.**

« Microbiological study of transtracheal aspirates from dogs with suspected lower respiratory tract disease : 264 cases (1989-1995) »

Journal of American Veterinary Medicine Association, vol 210, 1997, p : 55-58

**2. BALDWIN F. ; BECKER A. B.**

« Bronchoalveolar eosinophilic cells in a canine model of asthma : two distinctive populations »

Veterinary Pathology, vol 30,1993, p : 97-103

3. **BAUDENDISTEL L. J. ; VOGLER G. A. ; FRANK P. A. ; ZANABONI P. B. ; DAHMS T. E.**  
 « Bronchoalveolar eosinophilia in a random-source versus purpose-bred dogs »  
 Laboratory Animal Science, vol 42, 1992, p : 491-496
  
4. **BAUER T. ; THOMAS W. P.**  
 « Pulmonary diagnostic techniques »  
 Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice, vol 13, 1983, p : 273-282
  
5. **BOURDOISEAU G. ; CADORE J. L.**  
 « Eosinophile et éosinophilie »  
 Le Point Vétérinaire, vol 25, 1993, p : 25-33
  
6. **BROWN N. O. ; NOONE K. E. ; KURZMAN I. D.**  
 « Alveolar lavage in dogs »  
 American Journal of Veterinary Research, vol 44, 1983, p : 335-337
  
7. **CADORE J. L.**  
 « Lavage broncho-alvéolaire »  
 Le Point Vétérinaire, vol 160, 1994, p : 528-530
  
8. **CALVERT C. A. ; RAWLINGS C. A**  
 « Pulmonary manifestations of heartworm disease »  
 Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice, vol 15, 1985, p : 991-1011
  
9. **CLERCX C. ; PEETERS D. ; SNAPS F. ; HANSEN P. ; MAC ENTEE K. ; DETILLEUX J. ; HENROTEAUX M. ; DAY M. J.**  
 « Eosinophilic bronchopneumopathy in dogs »  
 Journal of Veterinary Internal Medicine, vol 14, 2000, p : 282-291
  
10. **CORCORAN B.**  
 « Cytological collection techniques »  
In : V. L. FUENTES, S. SWIFT  
 Manual of Small Animal Cardiorespiratory Medicine and Surgery  
 Cheltenham, BSAVA, 1998, p : 75-78
  
11. **COWELL R. L. ; TYLER R. D. ; BALDWIN C. J. ; MEINKOTH J. H.**  
 « Transtracheal / bronchoalveolar washes »  
In : R. L. COWELL, R. D. TYLER, J. H. MEINKOTH  
 Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat  
 St. Louis, Mosby, 1999, p : 159-173
  
12. **CREIGHTON S. R. ; WILKINS R. J.**  
 « Transtracheal aspiration biopsy : technique and cytologic evaluation »  
 Journal of American Animal Hospital Association, vol 10, 1974, p : 219-226
  
13. **FOURNEL-FLEURY C. ; MAGNOL J. P. ; GUELFY J. F.**  
 « Principes d'interprétation »  
In : C. FOURNEL-FLEURY, J. P. MAGNOL, J. F. GUELFY  
 Cytologie du cancer chez le chien et le chat  
 Paris, PMCAC, 1994, p : 9-17

**14. GEORGI J. R.**

« Parasites of the respiratory tract »

Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice, vol 17, 1987, p : 1421-1442

**15. GAMET Y.**

« Le lavage trachéal chez le chien et le chat »

Le Nouveau Praticien Vétérinaire, vol 3, 2001, p : 31-33

**16. HAWKINS E. C.**

« Tracheal wash and bronchoalveolar lavage in the management of respiratory disease »

In : R. W. KIRK, J. D. BONAGURA

Kirk's Current Veterinary Therapy XI

Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1992, p : 795-800

**17. HAWKINS E. C.**

« Pulmonary parenchymal diseases »

In : S. J. ETTINGER, E. C. FELDMAN

Textbook of Veterinary Internal Medicine : diseases of the dog and cat (Fifth Edition)

Philadelphia, W. B. Saunders Company, 2000, p : 1061-1090

**18. HAWKINS E. C. ; BERRY C. R.**

« Use of a modified stomach tube for bronchoalveolar lavage in dogs »

Journal of American Veterinary Medical Association, vol 215, 1999, p : 1635-1639

**19. HAWKINS E. C. ; DE NICOLA D. B. ; KUEHN N. F.**

« Bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary disease in the dog and cat »

Journal of Veterinary Internal Medicine, vol 4, 1990, p : 267-274

**20. HAWKINS E. C. ; DE NICOLA D. B. ; PLIER M. L.**

« Cytological analysis of bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of spontaneous respiratory tract disease in dogs : a retrospective study »

Journal of Veterinary Internal Medicine, vol 9, 1995, p : 386-392

**21. HAWKINS E. C. ; MORRISON W. B. ; DE NICOLA D. B. ; BLEVINS W. E.**

« Cytologic analysis of bronchoalveolar lavage fluid from 47 dogs with multicentric malignant lymphoma »

Journal of American Veterinary Medical Association, vol 203, 1993, p : 1418-1425

**22. HIRSHMAN C. A. ; AUSTIN D. R. ; KLEIN W. . HANIFIN J. M. ; HULBERT W.**

« Increased metachromatic cells and lymphocytes in bronchoalveolar lavage fluid of dogs with airway hyperreactivity »

American Review of Respiratory Diseases, vol : 133, 1986, p : 482-487

**23. JAFFE T. J.**

« Diagnostic sampling and treatment techniques »

In : D. M. MC CURNIN

Clinical textbook for veterinary technicians

Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1998, p : 224-225

- 24. KAZACOS K. R.**  
 « Larva migrans from pets and wildlife »  
 Supplement to Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, vol 24, 2002, p :41-46
- 25. LATIMER K. S.**  
 « Cytologic examination of the respiratory tract-part two »  
 In : Proceeding of the 11<sup>th</sup> annual veterinary medical forum  
 Washington, American College of Veterinary Internal Medicine, 1993, p : 5-8
- 26. LINDER J.; RADIO S. J.; ROBBINS R. A; GHAFOURI M.; RENNARD S. I**  
 « Bronchoalveolar lavage in the cytologic diagnosis of carcinoma of the lung »  
 Acta Cytologica, vol 31, 1987, p :796-801
- 27. MAC CAULEY M.; ATWELL R. B. ; SUTTON R. H. ; LUMSDEN J. S.**  
 « Unguided bronchoalveolar lavage techniques and residual effects in dogs »  
 Australian Veterinary Journal, vol 76, 1998, p : 161-165
- 28. MAC CULLOUGH S. ; BRINSON J.**  
 « Collection and interpretation of respiratory cytology »  
 Clinical Techniques in Small Animal Practice, vol 14, 1999, p : 220-226
- 29. MAC KIERNAN B. C. ; SMITH A. R. ; KISSIL M.**  
 « Bacterial isolates from the lower trachea of clinically healthy dogs »  
 Journal of the American Animal Hospital Association, vol 20, 1984, p : 139-142
- 30. MASSERDOTTI C. ; DE LORENZI D.**  
 « Non-neoplastic bronchopulmonary diseases in dogs and cats : diagnostic approach by cytological examination »  
 Veterinaria, vol 12, 1998, p : 33-39
- 31. MAYER P. ; LABER G. ; WALZI H.**  
 « Bronchoalveolar lavage in dogs; Analysis of proteins and respiratory cells »  
 Journal of Veterinary Medicine, vol 37, 1990, p : 392-399
- 32. MIURA M. ; INOUE H. ; ICHINOSE M. ; SHIMURA S. ; KATSUMATA U. ; KIMURA K. ; SHINDOH Y. ; TANNO Y. ; TAKISHIMA T.**  
 « Increase in luminal mast cell and epithelial damage may account for increased airway responsiveness after viral infection in dogs »  
 American Review of Respiratory Diseases, vol 140, 1989, p : 1738-1744
- 33. NELSON R. W. ; COUTO C. G. ; BUNCH S. E. ; GRAUER G. F. ; HAWKINS E. C. ; JOHNSON C. A. ; LAPPIN M. R. ; TAYLOR S. M. ; WARE W. A. ; WILLARD W. D.**  
 « Diagnostic tests for the lower respiratory tract »  
 In : R. W. NELSON, C. G. COUTO  
 Small Animal Internal Medicine  
 St. Louis, Mosby, 1998, p : 254-296
- 34. NORRIS C. R.; GRIFFY S. M.; SAMII V. F.; CHRISTOPHER M. M.;MELEMA M. S.**



« Comparison of results of thoracic radiography, cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage and histologic evaluation of lung specimens in dogs with respiratory tract disease: 16 cases (1996-2000) »

Journal of American Veterinary Medical Association, vol 218, 2001, p: 1456-1461

**35. PADRID P.**

« Diagnostic and therapy of canine chronic bronchitis »

In : R. W. KIRK, J. D. BONAGURA

Kirk's Current Veterinary Therapy XII

Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1995, p : 908-914

**36. PEETERS D. E. ; MAC KIERNAN B. C. ; WEISIGER R. M. ; SCHAEFFER D. J. ; CLERCX C.**

« Quantitative bacterial cultures and cytologic examination of bronchoalveolar lavage specimens in dogs »

Journal of Veterinary Internal Medicine, vol 14, 2000, p : 534-541

**37. PINSKER K. L. ; NORIN A. J. ; KAMHOLZ S. L. ; MONTEFUSCO C. ; SCHREIBER K. . HAGSTROM J. W. C. ; VEITH F. J.**

« Cell content in repetitive canine bronchoalveolar lavage »

Acta Cytologica, vol 24, 1980, p : 558-563

**38. RAJAMÄKI M. M. ; JÄRVINEN A. K ; SAARI S. A. M. ; MAISI P. S.**

« Effect of repetitive bronchoalveolar lavage on cytologic findings in healthy dogs »

American Journal of Veterinary Research, vol 62, 2001, p : 13-16

**39. RAKISH P. M. ; LATIMER K. S.**

« Cytology of the respiratory tract »

Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice, vol 19, 1989, p : 823-850

**40. REBAR A. H. ; DE NICOLA D. B. ; MUGGENBURG B. A.**

« Bronchopulmonary lavage cytology in the dog : normal findings »

Veterinary Pathology, vol 17, 1980, p : 294-304

**41. REBAR A. H. ; HAWKINS E. C. ; DE NICOLA D. B.**

« Cytologic evaluation of the respiratory tract »

Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice, vol 22, 1992, p : 1065-1085

**42. RENNARD S. I. ; GHAFOURI M. ; THOMPSON A. B. ; LINDER J. ; VAUGHAN W. ; JONES K. ; ERTL R. F. ; CHRISTENSEN K. ; PRINCE A. ; STAHL M. G. ; ROBBINS R. A.**

« Fractional processing of sequential bronchoalveolar lavage to separate bronchial and alveolar samples »

American Review of Respiratory Diseases, vol 141, 1990, p : 208-217

**43. ROUDEBUSH P.**

« Tracheobronchoscopy »

Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice, vol 20, 1990, p : 1292-1314

44. **STEVENS W. H. M. ; ÄDELROTH E. ; WATTIE J. ; WOOLEY M. J. ; ELLIS R. ; DAHLBÄCK M. ; O'BYRNE P. M.**  
« Effect of inhaled budesonide on ozone-induced airway hyperresponsiveness and bronchoalveolar lavage cells in dogs »  
Journal of Applied Physiology, vol 77, 1994, p: 2578-2583
45. **SU M. ; CHI E. Y. ; BISHOP M. J. ; HENDERSON W. R.**  
« Lung mast cells increase in number and degranulate during pulmonary artery occlusion/reperfusion injury in dogs »  
American Review of Respiratory Diseases, vol 147, 1993, p : 448-456
46. **VAIL D. M. ; MAHLER P. A. ; SOERGEL S. A.**  
« Differential cell analysis and phenotypic subtyping of lymphocytes in bronchoalveolar lavage fluid from clinically normal dogs »  
American Journal of Veterinary Research, vol 56, 1995, p : 282-285
47. **WOOLLEY M. J. ; LANE C. G. ; ELLIS R. ; STEVENS W. H. ; WOOLLEY K. L. ; O'BYRNE P. M.**  
« Role of airway eosinophils in the development of allergen-induced airway hyperresponsiveness in dogs »  
American Journal of Critical Care Medicine, vol 152, 1995, p : 1508-1512
48. **WOOLEY M. J. ; WATTIE J. ; ELLIS R. ; LANE C. G. ; STEVENS W. H. M. ; WOOLEY K. L. ; DAHLBACK M. ; O'BYRNE P. M.**  
« Effect of an inhaled corticosteroid on airway eosinophils and allergen-induced airway hyperresponsiveness in dogs »  
Journal of Applied Physiology, vol 77, 1994, p: 1303-1308
49. **YOHAN S. E. ; HAWKINS E. C. ; MORRISON W. B. ; REAMS R. Y. ; DE NICOLA D. B. ; BLEVINS W. E.**  
« Confirmation of a pulmonary component of multicentric lymphosarcoma with bronchoalveolar lavage in two dogs »  
Journal of American Veterinary Medical Association, vol 204, 1994, p : 97-101