



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida



Université Saad
Dahlab-Blida 1-

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Master en Sciences Vétérinaires

**Suivi cytologique de trois cas de Tumeur Vénérienne
Transmissible Canine pendant une monochimiothérapie
à la vincristine**

Présenté par

BANOUNE Tahar & BOUDJEMAÏ Said

Devant le jury :

Président(e) :	BERBER A.	PR	ISV Blida
Examineur :	SELLALI S.	MAA	ISV Blida
Promoteur :	BELALA R.	MCA	ISV Blida

Année : 2020/2021

REMERCIEMENTS

Nos remerciements les plus sincères vont à :

Notre promoteur Monsieur BELALA qu'on ne pourra pas remercier assez, déjà d'avoir été notre promoteur, d'avoir partagé avec nous tous son savoir et toute son expérience, d'avoir été beaucoup plus qu'un professeur, il était plutôt un « père spirituel » et on le considère ainsi.

Notre président du Jury Monsieur BERBER pour avoir accepté de présider notre jury d'examen.

Notre examinatrice Melle SELLALI d'avoir accepté d'examiner notre travail et d'avoir été disponible et présente pour nous.

Le responsable de « la Plateforme Biotechnologique en Reproduction des Carnivores de l'Université de Blida-1 (PBRC/U.B1) » d'avoir bien voulu nous accueillir au niveau de sa structure et mettre à notre disposition tout le matériel et les équipements nécessaires à la réalisation de ce travail, ainsi que le personnel technique de la PBRC /U.B1 pour leur soutien et leur serviabilité.

Les propriétaires des chiennes RETA, ROSA, LAIKA et du chien NICKY d'avoir accepté de contribuer à cette étude et pour leur patience et gentillesse.

Melle MEDJKOUN Myra, pour son aide précieuse pendant la réalisation pratique de ce travail et sa contribution lors de sa rédaction. Nous avouons que sans sa contribution ce travail n'aurait pas été de cette qualité.

DEDICACES

A ma Mère, qui a œuvré pour ma réussite par son soutien, son amour, son assistance et sa présence dans ma vie ; je t'aime maman et que Dieu le tout puissant vous garde et vous accorde santé, bonheur et longue vie.

A mon Père, pour tous les sacrifices qu'il a fait pour nous et ses précieux conseils ; tu me manque papa, que Dieu t'accueille dans son vaste paradis

A mes frères et sœurs qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant tout mon cursus.

A tous mes amis, vous êtes ma deuxième famille.

Tahar

DEDICACES

Pour ma mère l'être le plus cher à mon âme qui me pousse toujours vers l'avant, à mon père qui fait l'impossible pour satisfaire sa famille et qui est ma source d'inspiration.

Ma sœur Yasmina et mon petit frère Amine vous êtes les meilleurs.

Ma tante Karima et oncle Hakim qui ont toujours à mes côtés.

Tous mes amis que j'ai rencontrés à la faculté vous êtes ma deuxième famille.

A monsieur REDHA BELALA vous êtes un exemple dont on s'inspire vous nous avez guidés durant cette courte période, et vous nous avez contaminés avec votre amour envers la médecine vétérinaire je vous remercie pour tous.

Pour Mlle Myra MEDJKOUNE sans toi, on n'aurait pas su quoi faire alors merci énormément. A Mr. ROUMANE MOHAND tu nous as beaucoup aidés durant cette année

Madame ABTOU.DJ pour l'opportunité qu'elle m'a offerte et la confiance qu'elle m'a apportée.

SAID

RESUME

La Tumeur Vénérienne Transmissible Canine (TVTC) est une tumeur contagieuse à cellules rondes (TCR), spécifique au chien, à localisation génitale et éventuellement extra génitale. Elle occasionne des taux élevés de morbidité avec une distribution mondiale et une forme endémique dans les zones tropicales et subtropicales. La cytologie est la technique de choix pour différencier la TVTC des autres TCR et la chimiothérapie à la Vincristine (VCR) est la meilleure option thérapeutique. Ce travail consiste en un suivi clinique et cytologique de trois cas de TVTC pendant une monochimiothérapie à la VCR mise en place jusqu'à rémission clinique et cytologique de la tumeur ou un maximum de six séances hebdomadaires. L'analyse cytologique a été réalisée au moyen d'une fiche d'interprétation conçue spécialement à cet effet et comprend essentiellement un diagnostic différentiel des TCR, une classification cytomorphologique et une identification du stade d'évolution tumorale. Les résultats confirment que la cytologie est la méthode de choix pour le diagnostic, le suivi thérapeutique ainsi que le pronostic de la TVTC. Cette technique présente les avantages d'être non invasive, simple et rapide à réaliser et peu coûteuse notamment avec la coloration rapide Diff-Quick® (D-Q). Il est donc fortement recommandé aux vétérinaires praticiens d'exploiter la fiche d'interprétation proposée dans ce travail en associant systématiquement la cytologie à la clinique dans la prise en charge diagnostique et thérapeutique des TVTC.

Mots-clés : Tumeur Vénérienne Transmissible Canine (TVTC) - Tumeurs à cellules rondes (TCR) - Cytologie (CYTO)– Classification cytomorphologique – Vincristine (VCR).

ملخص

إن ورم الجهاز التناسلي المنقول لدى الكلاب هو سرطان معدي ذو خلايا مستديرة، خاص بالكلاب، و له تموقع تناسلي وغير تناسلي. ينتشر في أغلب دول العالم ويتوطن في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية، متسببا في معدلات اعتلال مرتفعة. يعتبر فحص الخلايا الطريقة المثلى لتمييز هذا السرطان عن أورام الخلايا المستديرة الأخرى، كما يعتبر العلاج الكيماوي بمادة "الفينكريستين" أنسب اختيار للعلاج. تتمثل هذه الدراسة في متابعة سريرية و خلوية لثلاث حالات من ورم الجهاز التناسلي المنقول لدى الكلاب طيلة علاج كيماوي بمادة "الفينكريستين" و ذلك إلى غاية الشفاء التام أو ستة حصص أسبوعية كأقصى حد. لقد تم فحص الخلايا باستغلال بطاقة تفسير صممت خصيصا لهذا الغرض و تشمل عدة محاور أهمها الشخيص التفريقي للأورام ذات الخلايا المستديرة، التصنيف المورفولوجي و تحديد مرحلة تطور الورم. تؤكد نتائج هذه الدراسة أن فحص الخلايا هو التقنية المفضلة للتشخيص، والمتابعة العلاجية وكذا التنبؤ بهذا السرطان. من مزايا فحص الخلايا أنه غير اقتحامي، بسيط، سريع و غير مكلف خصوصا باستعمال الملون السريع Diff-Quick و بالتالي، يوصى البيطرة الممارسون باستغلال بطاقة التفسير المقترحة في هذه الدراسة و بإدراج تقنية الفحص الخلوي إضافة إلى الفحص السريري، وذلك بشكل منتظم في الإدارة التشخيصية و العلاجية لهذا المرض.

الكلمات المفتاح: ورم الجهاز التناسلي المنقول لدى الكلاب أورام الخلايا المستديرة فحص الخلايا التصنيف - -
المورفولوجي مادة الفينكريستين- .

ABSTRACT

Canine Transmissible Venereal Tumor (CTVT) is a contagious tumor with round cells, specific to dogs, located genitally and possibly extra genitally. It causes high rates of disease with worldwide distribution and endemic in the tropics and subtropics. Cytology is the technique of choice to differentiate CTVT from other round cell tumors, and vincristine mono- chemotherapy is the best treatment option. This work consists of a clinical and cytological follow-up of three cases of CTVT during mono-chemotherapy with vincristine implemented until clinical and cytological remission of the tumor or a maximum of six weekly sessions. The cytological analysis is carried out using an interpretation sheet specially designed for this purpose on the basis of data reported in the literature. It includes a differential diagnosis between the various round cell tumors, a cytomorphological classification and finally an identification of the tumor growth. The results confirm that cytology is the method of choice for the diagnosis, therapeutic monitoring and prognosis of CTVT. This technique also has the advantages of being non-invasive, simple and quick to perform and inexpensive, particularly with Diff-Quick® rapid staining proposed as an alternative to conventional MG-G. It is therefore strongly recommended that practicing veterinarians use the interpretation sheet proposed in this work by systematically associating cytology with the clinic in the diagnostic and therapeutic management of CTVT.

Key-words : CTVT - Round cell tumors - Cytology – Cytomorphological classification - Vincristine.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
I PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1. Historique et situation dans le monde.....	4
1.2. Origine.....	4
1.2. Situation mondiale	4
1.3. Situation en Algérie	8
2. Immunologie de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine	9
2.2. Caractéristiques immunologiques	9
2.2. Mécanismes d'évasion immunitaire	10
3. Pathogénie de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine.	11
3.1. Phases d'évolution tumorale.....	11
3.1.1. Phase de progression	11
3.1.2. Phase stable	12
3.1.3. Phase de régression	12
3.2. Propagation tumorale	13
4. Présentation clinique	14
4.1. Aspect morphologique.	14
4.2. Localisation génitale.	14
4.3. Localisation extra-génitale.	15
5. Diagnostic de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine.....	16
5.1. Diagnostic clinique.....	16
5.2. Diagnostic histologique et cytologique	17
5.2.1. Choix entre histologie et cytologie	17
5.2.1. Cytologie de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine	18
5.2.1.1. Diagnostic différentiel des tumeurs à cellules rondes	18
5.2.1.2. Détermination du stade d'évolution tumorale.	19
5.2.1.3. Classification cytomorphologique	20
6. Chimiothérapie de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine.	23
6.1. Avantages de la chimiothérapie.	23
6.2. Chimiothérapie à la vincristine.....	23
6.2.1. Résistance à la vincristine.	23
6.2.2. Résistance polychimiothérapeutique	24
6.3. Protection des manipulateurs en chimiothérapie.	25

II. PARTIE EXPERIMENTALE.....	26
1. MATERIELS ET METHODES.....	28
1.1. Lieu et période de l'étude	28
1.2. Matériel biologique « Animaux »	28
1.3. Matériels de laboratoire.....	28
1.3.1. Matériel de diagnostic	28
1.3.2. Matériel de chimiothérapie	29
1.4. Méthodes.....	30
1.4.1. Réalisation du prélèvement cytologique	30
1.4.2. Préparation et coloration du matériel cytologique	30
1.4.3. Lecture et interprétation des lames	30
1.4.4. Suivi clinique et cytologique	31
1.4.5. Monochimiothérapie à la Vincristine.....	32
2. RESULTATS	35
2.1. Présentation du cas n° 01.....	35
2.1.1. Présentation générale du cas.....	35
2.1.2. Diagnostic différentiel d'un écoulement génital sanguinolent.	35
2.1.3. Description et localisation de la lésion.	35
2.1.4. Diagnostic cytologique différentiel des tumeurs à cellules rondes.....	36
2.1.5. Classification cytomorphologique de la TVTC.....	36
2.1.6. Stade d'évolution de la TVTC.	36
2.1.7. Monochimiothérapie à la vincristine.	37
2.1.8. Suivi clinique et cytologique hebdomadaire pendant le traitement.....	37
2.2. Présentation du cas n° 02.....	39
2.2.1. Présentation générale du cas.....	39
2.2.2. Diagnostic différentiel d'un écoulement génital sanguinolent	39
2.2.3. Description et localisation de la lésion.	39
2.2.4. Diagnostic cytologique différentiel des tumeurs à cellules rondes.....	40
2.2.5. Classification cytomorphologique de la TVTC.....	40
2.2.6. Stade d'évolution de la TVTC.	40
2.2.7. Monochimiothérapie à la vincristine.	41
2.2.8. Suivi clinique et cytologique hebdomadaire pendant le traitement.....	41
2.3. Présentation du cas n° 03.....	43
2.3.1. Présentation générale du cas.....	43
2.3.2. Diagnostic différentiel d'un écoulement génital sanguinolent.	43
2.3.3. Description et localisation de la lésion.	43

2.3.4. Diagnostic cytologique différentiel des tumeurs à cellules rondes.....	44
2.3.5. Classification cytomorphologique de la TVTC.....	44
2.3.6. Stade d'évolution de la TVTC.	44
2.3.7. Monochimiothérapie à la vincristine.	45
2.3.8. Suivi clinique et cytologique hebdomadaire pendant le traitement.....	46
4. DISCUSSION	49
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	57
RECOMMANDATIONS.....	59
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	61
ANNEXES.....	65
ANNEXE-A : Cas de la chienne LAIKA exclue de l'étude.....	66
ANNEXE-B : Fiche d'interprétation cytologique.....	67
ANNEXE-C: Présentation de la Plateforme Biotechnologique en Reproduction.....	71

LISTES DES TABLEAUX

N°	Titre de la figure	Page
Tableau 01 :	Identification des chiens utilisés dans cette étude.	28

LISTES DES FIGURE

N°	Titre de la figure	Page
Figure 01 :	Répartition géographique mondiale de la TVTC	6
Figure 02 :	Prévalence de la TVTC par continent	6
Figure 03 :	Expansion précoce de la TVTC (avant 500 BP)	7
Figure 04 :	Expansion tardive de la TVTC (A partir de 500 BP) sous-lignée 1	7
Figure 05 :	Expansion tardive de la TVTC (A partir de 500 BP) sous-lignée 2	7
Figure 06 :	Localisation géographique des vétérinaires questionnés	8
Figure 07 :	Modèle de l'évasion immunitaire de la TVTC	10
Figure 08 :	Tumeur Vénérienne Transmissible Canine à localisation génitale et extra génitale.	15
Figure 09 :	Sites métastatiques de la TVTC.	15
Figure 10 :	Microphotographies de lames cytologiques des tumeurs à cellules rondes.	18
Figure 11 :	Algorithme de diagnostic différentiel des tumeurs à cellules rondes	18
Figure 12 :	Ultrastructure d'une TVTC en régression.	19
Figure 13 :	Classes cytomorphologiques des cellules de TVTC.	20
Figure 14 :	Microphotographies de lames cytologiques de TVTC d'après (Santosdo Amaral et al., 2007).	20
Figure 15 :	Microphotographies de lames cytologiques de TVTC d'après (Silva et al., 2021).	20
Figure 16 :	Cytologie d'une TVTC à localisation nasale.	21

Figure 17 :	Mécanismes d'action et d'inhibition de la P-glycoprotéine.	23
Figure 18 :	Plateforme Biotechnologique en Reproduction des Carnivores/ Univ. Blida 1	27
Figure 19 :	Matériel utilisé pour le diagnostic et le suivi cytologique	28
Figure 20 :	Matériel utilisé pour la chimiothérapie	28
Figure 21 :	Photographie de la chienne RETA	34
Figure 22 :	Photographie de la lésion tumorale chez la chienne RETA	35
Figure 23 :	Microphotographie d'une lame d'empreinte cytologique de la chienne RETA avant traitement.	36
Figure 24 :	Photographies de lésions (A-D) et microphotographies de lames (A'-D') avant et pendant la monochimiothérapie à la Vincristine de la TVTC chez RETA	37
Figure 25 :	Photographie de la chienne ROSA	38
Figure 26 :	Photographie de la lésion tumorale chez la chienne ROSA	39
Figure 27 :	Microphotographie d'une lame d'empreinte cytologique de la chienne ROSA avant traitement.	40
Figure 28 :	Photographies de lésions (A-D) et microphotographies de lames (A'-D') avant et pendant la monochimiothérapie à la Vincristine de la TVTC chez la chienne ROSA	41
Figure 29 :	Photographie du chien Nicky	42
Figure 30 :	Photographie de la lésion tumorale du chien Nicky	43
Figure 31 :	Microphotographie d'une lame d'empreinte cytologique du chien Nicky avant traitement.	44
Figure 32 :	Photographies de lésions (A-F) et microphotographies de lames (A'-F') avant et pendant la monochimiothérapie à la Vincristine de la TVTC chez le chien Nicky	45
Figure 33 :	Photographie de la lésion (A) et microphotographie de lame d'empreinte cytologique (B) de la chienne Layka atteinte d'une TVTC en localisation vulvaire	67

LISTE DES ABREVIATIONS

CT :	Cellules tumorales.
CTP :	Cellules tumorales plasmocytaires.
CYTO :	Cytologie.
Cytomorph :	Classification cytomorphologique. D-Q :
	Coloration ou colorant Diff-Quick®.
HISTO :	Histologie.
IHC :	Immunohistochimie.
IL-6 :	Interleukine-6.
INF- β 1 :	Interféron β 1.
L-B :	Lymphocyte-B
L-T :	Lymphocyte-T
MDR :	Multidrog Reistance (Résistance polychimiothérapeutique).
MG-G :	Coloration May Grunwald-Giemsa.
P-gp :	P-glycoprotéine.
TCR :	Tumeurs à Cellules Rondes. TGF- γ :
	Transforming Growth Factor γ .
TVTC :	Tumeur Vénérienne Transmissible Canine.
TVTC-L :	Tumeur Vénérienne Transmissible Canine de forme lymphocytaire.
TVTC-M :	Tumeur Vénérienne Transmissible Canine de forme mixte.
TVTC-P :	Tumeur Vénérienne Transmissible Canine de forme plasmocytaire.VCR
:	Vincristine.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La Tumeur Vénérienne Transmissible Canine (TVTC), connue aussi dans la littérature sous le nom de « Sarcome de Sticker », est une tumeur contagieuse à cellules rondes, spécifique au chien qui touche essentiellement les organes génitaux externes et occasionnellement les organes sexuels interne avec d'éventuelles localisations extra génitales (Abeka, 2009 ; Somville, 2021).

Cette tumeur date d'environ 11000 ans, elle occasionne des taux élevés de morbidité avec une distribution mondiale et une forme endémique dans les zones tropicales et subtropicales (Strakova et Murchison 2014 ; Baez-Ortega et al. 2019).

L'agent causal de la TVTC est la cellule cancéreuse elle-même qui, se comportant comme une allogreffe, et se transmet d'un chien à un autre par voie horizontale via essentiellement la voie sexuelle mais aussi par contact direct sur un tissu traumatisé (Baez-Ortega et al. 2019).

La TVTC est classée parmi d'autres tumeurs contagieuses qui sont la « Tumeur Faciale transmissible du Diable de Tasmanie », la « leucémie des Mollusques Bivalves » et le « Sarcome Contagieux à cellules de Réticulum » qui touche le Hamster doré. Ces tumeurs contagieuses ne présentent aucun intérêt comparatif dans notre étude car aucune d'elles ne touche l'espèce canine (Crozet, 2018). Par contre, il existe des tumeurs à cellules rondes (Lymphome, mastocytome, histiocytome et le sarcome histiocytaire) rencontrés chez le chien qui peuvent être confondues avec la TVTC d'où l'intérêt d'un moyen différentiel précis.

L'histologie du tissu tumoral s'est révélée limitée dans la différenciation de la TVTC des autres tumeurs à cellules rondes car les caractéristiques diagnostiques et différentielles de cette tumeur concernent la cellule isolée et non le tissu analysé dans son ensemble par histologie. De plus, les préparations cytologiques offrent une meilleure préservation du noyau qui est un élément important dans la différenciation de la TVTC des tumeurs histologiquement similaires tel l'histiocytome. Ainsi, la cytologie serait la méthode diagnostique de choix (Goldschmidt et Hendrick, 2003 ; Pawaiya et al., 2006 ; Thangathurai et al., 2008).

En effet, Duncan et Prasse (1979) ont été les premiers à rapporter des données cytologiques précises permettant de différencier la TVTC des autres tumeurs à cellules rondes (Duncan et

Prasse, 1979). Hill et ses collaborateurs (1984) ont montré plus tard, l'intérêt de la cytologie dans la détermination du stade d'évolution de la TVTC en fonction de l'infiltration lymphocytaire (Hill et al., 1984).

La chimiothérapie donne des résultats prometteurs avec un taux de rémission de 100% pour les tumeurs traitées précocement (Conguly et al., 2013 ; Abeka, 2019) et le sulfate de vincristine se révèle être le médicament de choix offrant le maximum d'efficacité, de sécurité et de convenance en monochimiothérapie (Martins et al., 2005 ; Abeka, 2019 ; Somville, 2021).

Sur la base de toute ces données, les auteurs ont voulu évaluer l'intérêt de l'analyse cytologique comme un moyen de diagnostic et de suivi pendant le traitement de cette tumeur.

Ainsi, l'objectif du présent travail est d'instaurer, au moyen d'une fiche d'interprétation conçue à cet effet, un suivi clinique et cytologique de trois cas de TVTC pendant une monochimiothérapie à la vincristine.

I PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Historique et situation dans le monde.

1.2. Origine :

La tumeur vénérienne transmissible canine (TVTC) a été décrite pour la première fois en 1810 par Blaine (Crozet, 2018). Son origine remonte à plusieurs siècles mais l'estimation précise de son âge reste incertaine. Certains auteurs ont conclu à une origine allant de 250 à 2500 ans mais, en réalité cette fourchette correspond à l'ancêtre commun le plus récent et pas au moment d'origine de la tumeur, qui serait vraisemblablement beaucoup plus lointain. D'autres études ont avancé une origine remontant à environ 11.000 ans (Murchison et al., 2014 ; Siddle et Kaufman, 2014 ; Strakova et Murchison, 2015).

Le berceau de la TVTC serait une population génétiquement isolée car, selon les analyses scientifiques réalisées par Murchison et ses collaborateurs (2014), le génome tumoral manque d'hétérogénéité et indique une certaine consanguinité entre les animaux porteurs. Parmi les différentes méthodes d'analyse, le séquençage du gène RPPHH1 sur des échantillons tumoraux a été effectué puis comparé à plusieurs espèces de canidés (Rebeck et al., 2009).

Les tumeurs que l'on rencontre aujourd'hui découlent toutes d'un seul clone néoplasique. Selon certaines caractéristiques phénotypiques de l'animal source. Il s'agirait probablement d'un chien de type Husky ou un loup d'Asie de l'est, de taille moyenne à grande avec un pelage noir ou agouti. Le sexe n'a pas pu être déterminé à défaut de n'avoir trouvé qu'un seul chromosome X (Siddle et Kaufman, 2014 ; Murchison et al., 2014 ; Strakova et Murchison, 2015).

1.2. Situation mondiale

En 2014, Strakova et Murchison ont publié une étude épidémiologique réalisée par questionnaire renseigné par 645 vétérinaires et fonctionnaires de santé animale dans 109 pays, dans le but d'estimer la répartition et la prévalence de la TVTC.

Cette étude a confirmé que la TVTC est endémique dans au moins 90 pays du monde. La TVTC a été estimée à une prévalence de 1% ou plus dans la population canine d'au moins 13 pays dans le sud et le centre d'Amérique comme d'au moins 11 pays d'Afrique et 8 pays d'Asie. Dans les Etats Unis et l'Australie, la maladie n'était endémique que dans les

communautés indigènes. La comparaison des rapports de l'époque de l'étude avec les rapports historiques indiquait que la prévalence a baissé dans l'Europe du Nord, probablement à cause de la réglementation relative au contrôle sanitaire des populations canines durant les 19^{ème} et 20^{ème} siècles (Voir figures 01 et 02).

Dans cette même étude, l'analyse des facteurs modifiant continuellement la prévalence de la maladie à travers le monde a montré que la présence des chiens errants et non contrôlés est associée à une hausse de la prévalence car ces chiens constituent un réservoir de la maladie, alors que le contrôle sanitaire de ces populations canines par castration était associé à une baisse de la prévalence. En effet, il a été montré que la TVTC a disparu complètement du Royaume Uni durant le 20^{ème} siècle après l'application de la politique de contrôle des populations canines (Strakova et Murchison, 2014).

L'étude la plus récente est celle de Baez-Ortega et ses collaborateurs en 2019 qui ont résumé l'historique, la dispersion, la diversité, les expositions mutationnelles et l'évolution du clone de la TVTC. Il s'agit d'une analyse des mutations somatiques extraite à partir des axomes de 546 tumeurs globalement réparties ce qui a permis de tracer un arbre phylogénique. Ainsi, la dispersion de la tumeur à travers le monde pourrait être tracée, et certaines mutations pourraient être caractérisées en terme de localisation et de temps (Baez-Ortega et al., 2019).

La lignée de la TVTC aurait d'abord surgi avant 4000-8500 années. Dans les cinq derniers siècles (500 ans), la TVTC a pu se disperser assez rapidement à travers le monde, en partie à cause de l'extrême intensification du trafic humain maritime. La tumeur semble avoir échappé à ses populations d'origine avant moins de 2000 ans, se dispersant en Asie et jusqu'à l'Europe (Voir Figure 03).

L'expansion de la TVTC durant les cinq derniers siècles (500 ans) peut être observée sur les figures 04 et 05 et peut être divisée en deux sous-lignées. La figure 02 divise également la première sous-lignée. Celle représentée en rouge a été introduite aux Amériques avec les premiers contacts coloniaux avant environ 500 ans. La sous-lignée représentée en noir a été amenée en Afrique avant environ 300 ans et a été alors réintroduite en Europe et en Asie.

La seconde sous-lignée qui s'est répandue durant les cinq derniers siècles (500 ans) est représentée sur la figure 05. Elle s'est répandue de l'Europe vers l'Australie puis au

Pacifique. On peut également la retrouver en Amérique du Nord et en Afrique. Ces données suggèrent qu'à partir du 15^{ème} siècle, les chiens étaient fréquemment transportés sur de longues distances via le trafic maritime.

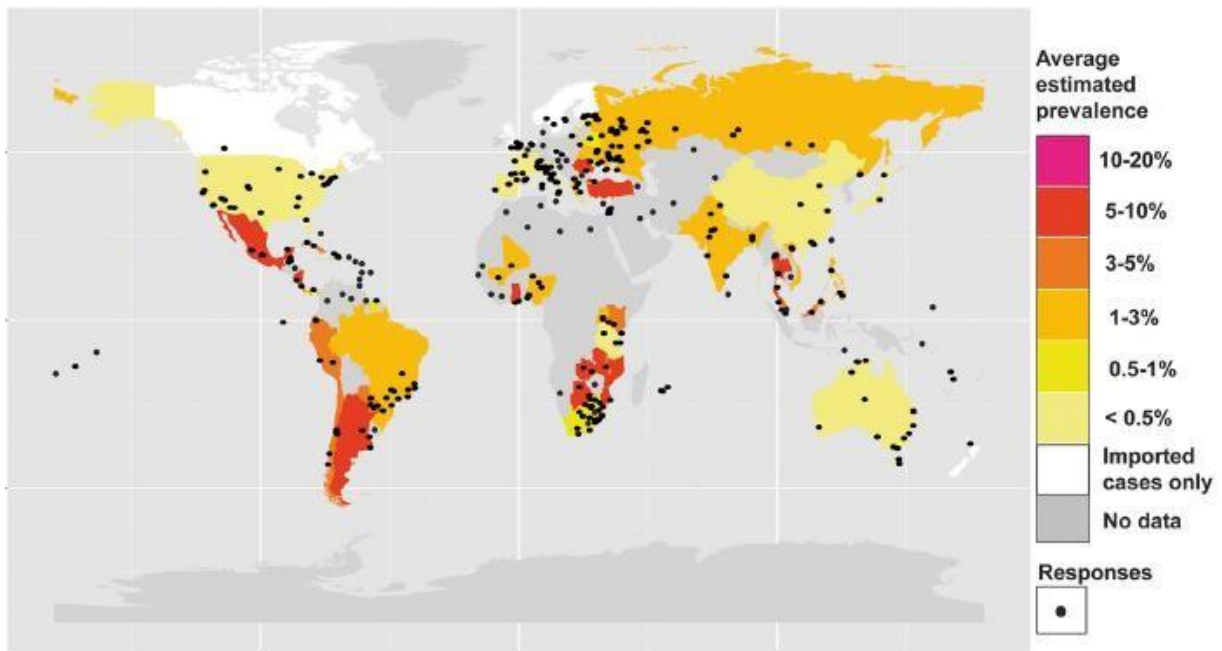


Figure 01 : Répartition géographique mondiale de la TVTC d'après (Strakova et Murchison, 2014).

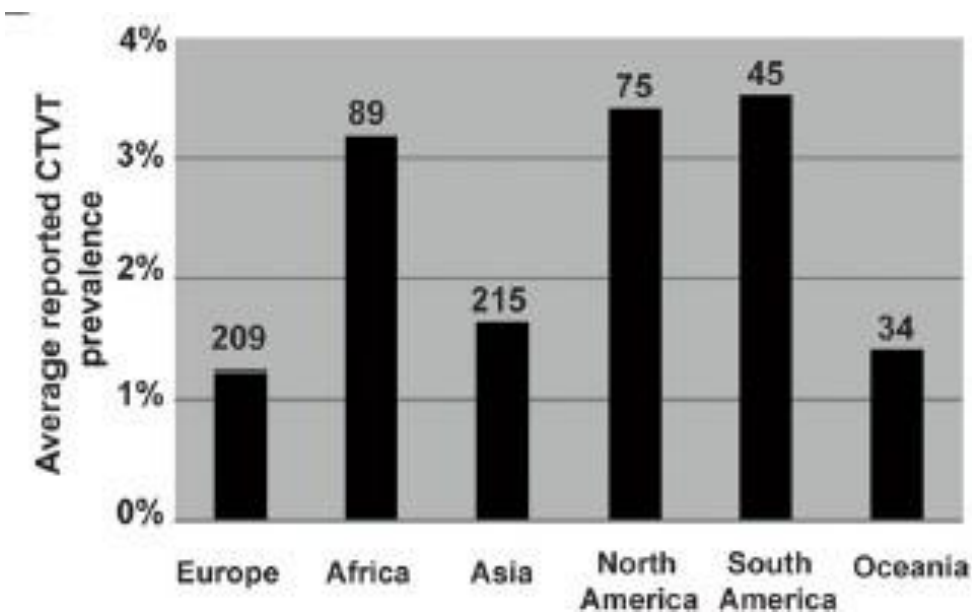


Figure 02 : Prévalence de la TVTC par continent d'après (Strakova et Murchison, 2014).

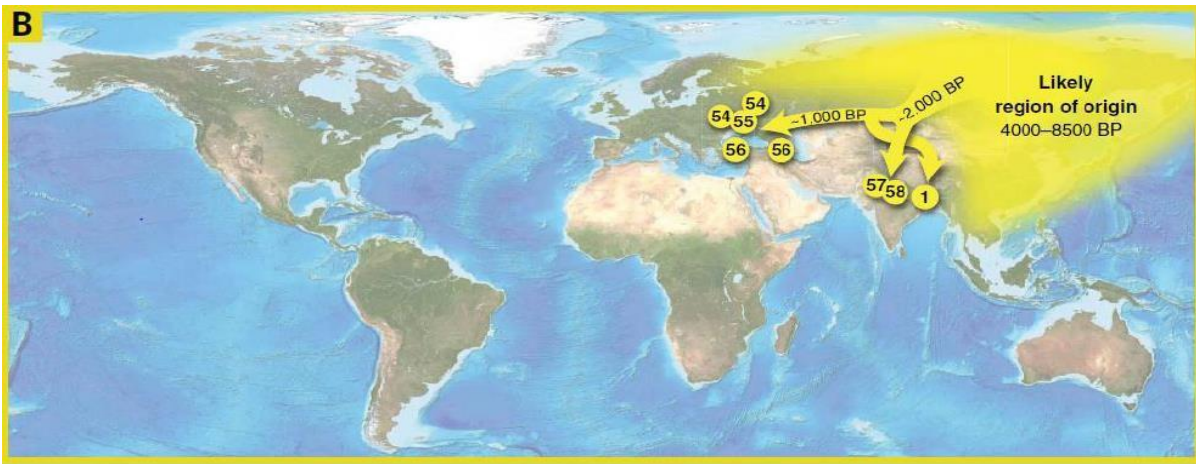


Figure 03 : Expansion précoce de la TVTC (avant 500 BP) d'après (Baez-Ortega et al., 2019).

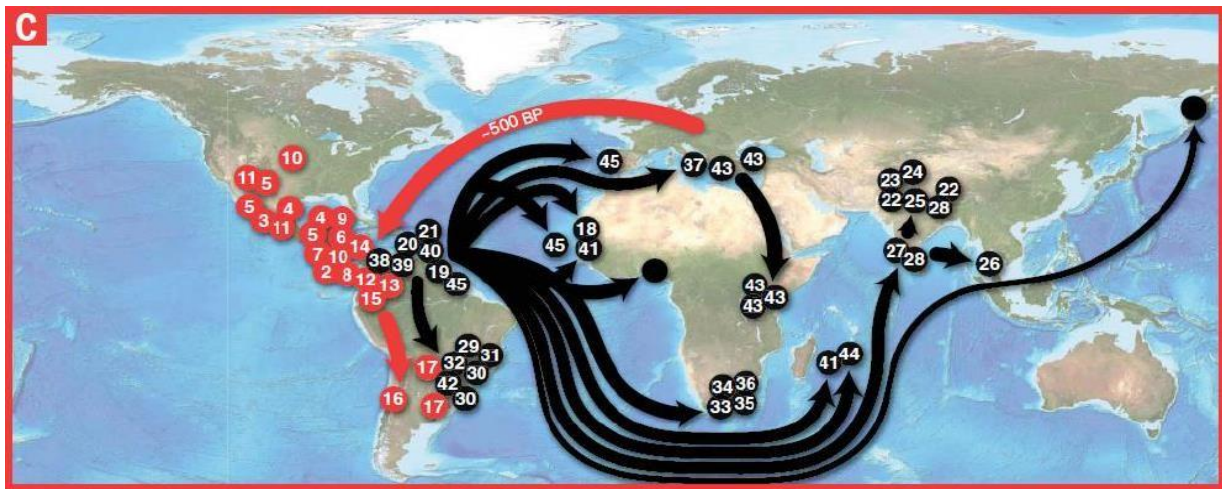


Figure 04 : Expansion tardive de la TVTC (A partir de 500 BP) sous-lignée 1 d'après (Baez-Ortega et al., 2019).

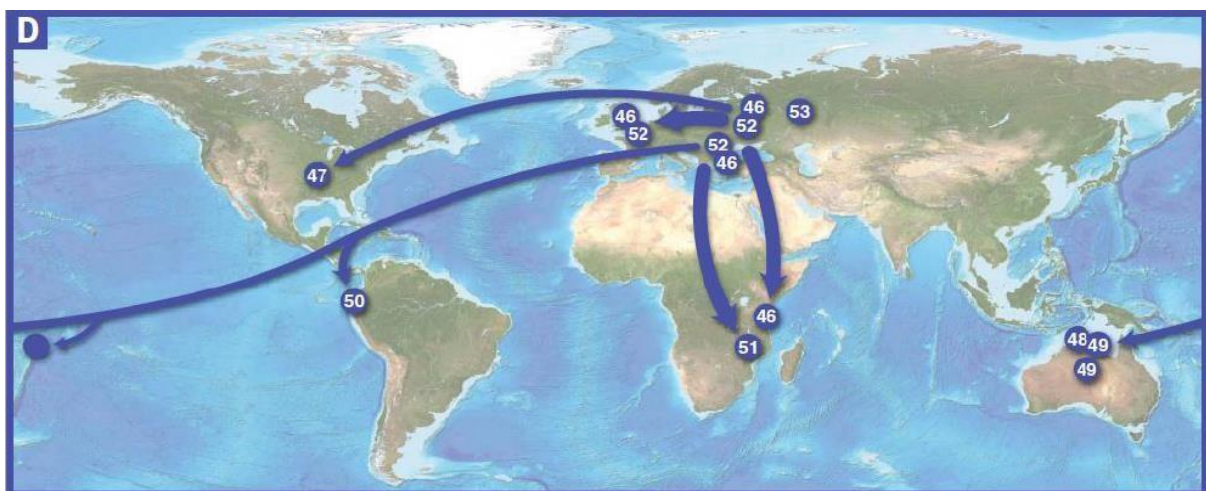


Figure 05 : Expansion tardive de la TVTC (A partir de 500 BP) sous-lignée 2 d'après (Baez-Ortega et al., 2019).

1.3. Situation en Algérie

En Algérie, il n'y a pas eu à notre connaissance beaucoup d'études sur l'épidémiologie et la prévalence de la TVTC ce qui n'aide pas à éclairer la situation dans notre pays. En effet, on observe que l'Algérie est dans la zone d'absence de données sur la carte de répartition géographique de la TVTC (Figure 01) réalisée dans l'étude de Strakova et Murchison en 2014.

Durant les dernières années (2018-2020), trois enquêtes épidémiologiques ont été réalisées (Mecheraoui et Alilouche, 2018 ; Bouziani, 2019 ; Benia, 2020) par questionnaire auprès de 64 vétérinaires répartis sur une dizaine de wilayas du Centre et de l'Est de l'Algérie (Voir figure 06). Cette étude a montré que ces régions sont loin d'être indemnes de la TVTC et 89.9% des vétérinaires ont rapporté avoir reçu des cas de TVTC (Benia, 2000).

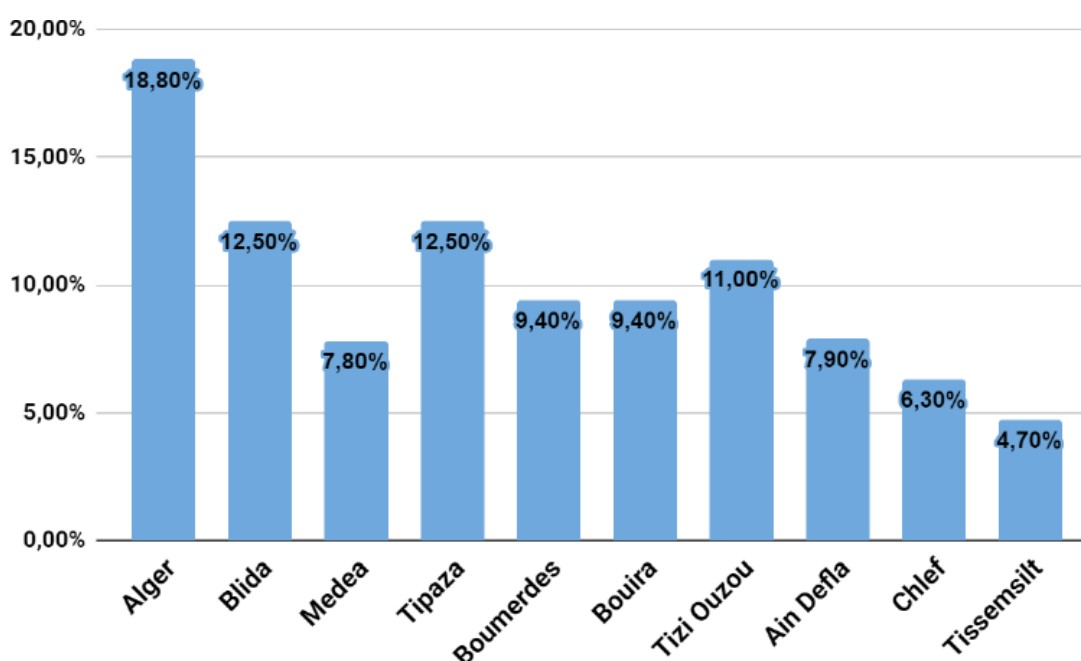


Figure 06 : Localisation géographique des vétérinaires questionnés selon (Benia, 2000).

D'autres études et enquêtes restent indispensables et fortement souhaitables afin de déterminer la prévalence de cette pathologie en Algérie.

2. Immunologie de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine

2.2. Caractéristiques immunologiques.

La TVTC, appartient morphologiquement au type des tumeurs à cellules rondes qui dérivent du tissu mésenchymateux. Elle a un profile chromatique immunohistochimique des histiocytes. Ces derniers sont un sous-groupe des leucocytes issus des précurseurs de cellules souches dérivés de la moelle osseuse (Origine mésenchymateuse), qui sous l'influence des cytokines, se différencient en deux lignées à savoir les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques. Ces dernières, assurent une régulation critique des réponses immunitaires adaptatives, et ont un rôle clé dans la présentation d'antigène tumoral (Gonzalez et al., 2000).

La TVTC est antigénique chez le chien et provoque à la foi des réactions immunitaires à médiation cellulaire et humorale. Le comportement biologique d'une tumeur à progression et régression rapide peut s'expliquer par la capacité initiale des cellules tumorales à réguler la réponse immunitaire de l'animal hôte à travers une variété de mécanismes physiopathologiques. Ces mécanismes incluent :

- Absence ou faible niveau d'expression des CMH I et II à la surface des cellules tumorales ainsi que la sécrétion d'agents cytotoxiques à l'égard des cellules B (Liao et al., 2003).
- Faible régulation de la différenciation des cellules dendritiques dérivées des monocytes.
- Réduction de la survie et du fonctionnement des cellules dendritiques (Liu et al., 2008)
- Limitation de l'infiltration des cellules inflammatoires, à savoir le lymphocytes-T, les plasmocytes, les macrophages au sein des cellules tumorales, probablement à travers la sécrétion de cytokines immunosuppressive par les cellules tumorales (Hsiao et al., 2008).

2.2. Mécanismes d'évasion immunitaire.

La figure 07 illustre le modèle de l'évasion immunitaire de la tumeur vénérienne transmissible canine. Durant la phase de progression, les cellules tumorales n'expriment pas les CMH I et II et sécrètent du TGF- β 1 (Pour Transforming Growth Factor- β 1). Cette cytokine inhibe la cytotoxicité associée aux lymphocytes infiltrant la tumeur (incluant les NK). Les cellules tumorales pourraient également inhiber certains types de cellules présentatrices d'antigènes. Durant cette phase, les lymphocytes infiltrant la tumeur sont présents en faible quantité. Lors de la phase de régression, le nombre de lymphocytes infiltrant la tumeur augmente. Ils sécrètent l'IFN- γ (Interféron- γ) et l'IL-6 (Interleukine-6) qui contrent l'effet du TGF- β 1 d'origine tumorale, induisant ainsi l'expression des CMH I et II à la surface des cellules tumorales. La présence des CMH permet une reconnaissance de la tumeur par l'organisme hôte et ainsi un rejet.

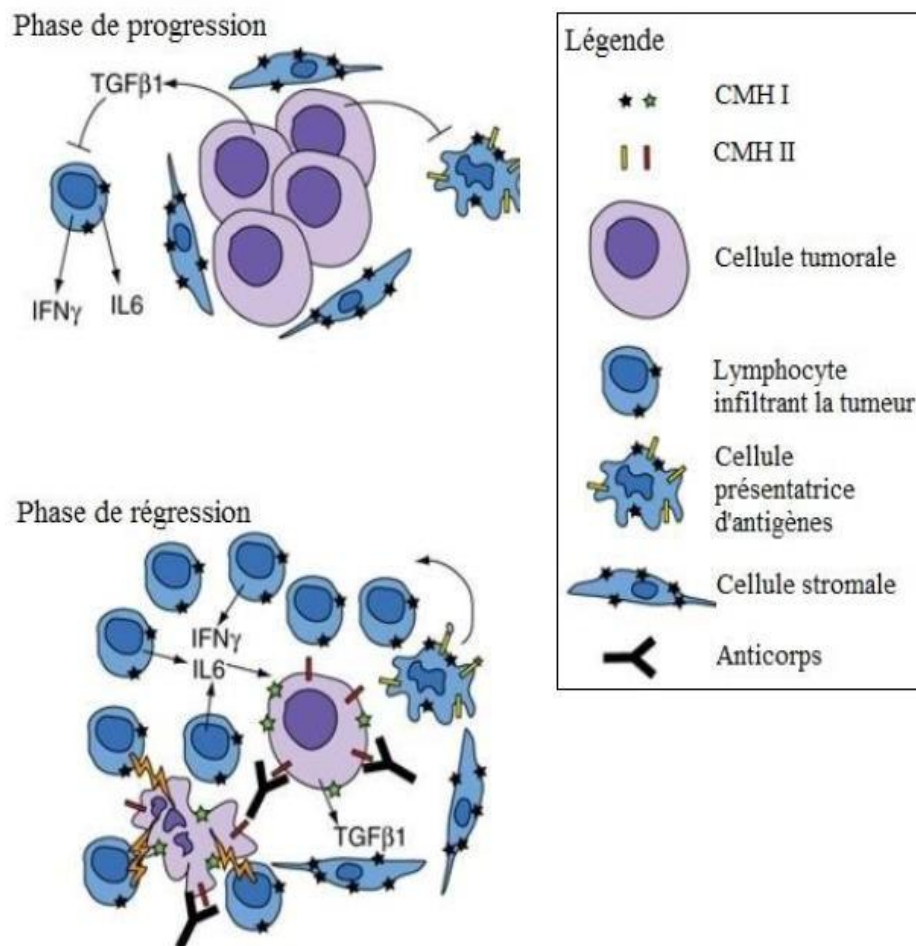


Figure 07: Modèle de l'évasion immunitaire de la tumeur vénérienne transmissible canine d'après (Murchison, 2008) modifié par (Crozet, 2018).

3. Pathogénie de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine.

3.1. Phases d'évolution tumorale.

La TVTC se transmet de chien à chien par implantation des cellules tumorales viables dans les régions d'abrasion avec une perte d'intégrité de la surface muqueuse. L'évolution de cette tumeur est unique de son genre, elle suit un modèle de croissance tout à fait prédictible. Dans les tumeurs naturelles et expérimentales, le modèle de croissance inclue une phase de progression, une phase statique et une phase de régression, suivi par une immunité de transplantation chez les chiens adultes immunocompétents, alors que des métastases se produisent chez les jeunes et les immunodéprimés (Hsiao et al., 2002). La transition entre progression et régression est accompagnée d'une augmentation significative du nombre des lymphocytes infiltrant les cellules tumorales (Murgia et al., 2006).

3.1.1. Phase de progression.

La phase initiale de progression, qui dure généralement quelques semaines, est caractérisée par une augmentation rapide du volume tumoral avec un temps de doublement de 4 à 7 jours, et une perte cellulaire de 50%. Pendant la phase de progression, les cellules tumorales échappent à la reconnaissance immunitaire par différents mécanismes (mentionnés précédemment dans le chapitre d'immunologie). Les cellules de cette tumeur produisent le TGF-1, une cytokine qui inhibe l'activité des NK et l'infiltration des lymphocytes cytotoxiques et diminue l'expression du CMH. Elles secrètent des substances qui détruisent les cellules B et préviennent la différenciation et la fonction des cellules dendritiques (Hsiao et al., 2004). Pendant la phase de progression, les cellules tumorales libèrent des protéines cytotoxiques et d'autres substances circulantes capables d'induire l'apoptose des lymphocyte-B faisant chuter dramatiquement leur taux dans le sang périphérique (Liao et al., 2003). Pendant cette phase, des anticorps spécifiques circulants dirigés contre les antigènes tumoraux peuvent être détecté chez les animaux affectés. Leur niveau sérique n'est pas bien corrélé avec la croissance tumorale, ce qui signifie qu'ils ne sont pas protecteurs contre la maladie établie. Par contre, l'immunité humorale semble avoir un rôle plus important dans le ralentissement de la croissance tumorale, la protection contre les métastases et la réduction du risque d'incidence de futures TVTC.

3.1.2. Phase stable.

Après la phase de progression, la tumeur croît plus lentement et devient vulnérable à la réponse immunitaire de l'hôte et rentre en phase de stabilité. Pendant la phase stable, on assiste à une croissance sensiblement plus lente avec un temps de doublement d'environ 20 jours, et une perte cellulaire de 80% à 90%.

Après la phase stable, qui peut durer de plusieurs semaines à plusieurs mois ou indéfiniment, plus de 80% des tumeurs rentrent en phase de régression pendant laquelle la tumeur rétrécit et disparaît éventuellement (Liu et al., 2008).

3.1.3. Phase de régression

La phase de régression dure généralement entre 2 et 12 semaines, pendant ce temps-là, une tumeur aussi grande que 100cm³ peut disparaître complètement. Pendant cette phase de régression, le nombre des lymphocytes infiltrant les cellules tumorales s'élève et secrètent l'INF- γ et l'IL-6 qui bloquent les effets inhibiteurs du TGF- β d'origine tumorale et induisent l'expression des CMH I et II qui déclenchent une réaction immunitaire provoquant la régression de la tumeur (Liu et al., 2008). L'expression du CMH I permet aux cellules de l'hôte de reconnaître le soi et l'intrus, alors que le CMH II est nécessaire aux lymphocyte-T pour reconnaître et initier une défense immunitaire cytotoxique (Santos et al., 2008).

Il est à noter que la présence d'apoptose, de mitose, de prolifération cellulaire, de fibrose et d'infiltration des lymphocytes sont de bons indicateurs du stade de développement de la TVTC. Les lymphocytes infiltrant les cellules tumorale (TIL : pour Tumor Infiltrating Lymphocytes) ainsi que les mastocytes jouent également un rôle important car leurs nombres peuvent être utilisés pour prédire le stade d'évolution de la tumeur (Mukaratirwa et al., 2006).

Le comportement pathologique de la TVTC montre des différences cliniques subtiles entre les tumeurs d'incidence naturelle et les celles transplantées. Bien que les deux sont caractérisées par une croissance locale agressive de plusieurs mois, une régression spontanée successive arrive rarement chez les chiens naturellement infectés et l'élévation des niveaux d'érythropoïétine associée à une érythrocytose marquée (présente chez les animaux atteints de tumeurs transplantées) ne sont pas rapportées dans les infections d'incidence naturelle. Les chiots nés de parents ayant contracté la maladie, sont

généralement immunisés contre une future tumeur. Une condition immunosuppressive chez l'hôte serait requise pour qu'une métastase secondaire puisse arriver.

3.2. Propagation tumorale

La taille tumorale atteinte peut être grande, et les tissus adjacents peuvent être impliqués. La propagation depuis le site tumoral primaire (souvent une localisation génitale externe) jusqu'aux nœuds lymphatiques adjacents est fréquente. Les métastases (5% à 25% dans les infections naturelles ; 2% à 20% dans les tumeurs transplantées) ne sont pas fréquentes (Santos do Amaral et al., 2007).

Les mastocytes, dont le nombre augmente aux bords de la tumeur, sont impliqués dans la promotion de l'angiogenèse, et facilitent ainsi l'expansion tumorale (Mukaratirwa et al., 2006).

La dissémination de la tumeur se produirait via une transplantation mécanique, une extension locale et une expansion hématogène. Les cellules néoplasiques circulant dans le sang provoquent chez le chien immunodéprimé, de multiples nodules cutanés, suggérant l'expansion hématogène comme une voie possible pour les manifestations cutanées (Albanese, 2006).

4. Présentation clinique

La manifestation Clinique dépend de la localisation de la tumeur sur un tissu ou un organe spécifique. Le caractère hémorragique est fréquemment associé aux tumeurs muqueuses et membranaire (génitale, orale et cavités nasales). Les masses tumorales tendent à saigner facilement à cause de l'ulcération extensive de la surface du revêtement épithélial. La protrusion génitale du tissu tumoral, dépend de la taille tumorale, et est plus évidente chez la chienne, alors que l'enfllement des nœuds lymphatiques inguinaux est souvent rencontré chez le chien mâle avec des tumeur péniennes (Martins et al., 2005).

4.1. Aspect morphologique.

La taille tumorale peut varier de 3 à 12 cm de diamètre (Park et al., 2006) et peut aller jusqu'à 15cm (Crozet, 2018). Les signes cliniques génitaux sont des écoulement vaginaux et préputiaux, des lésions cutanées ulcératives persistantes ou intermittentes, un enfllement et une humidification excessive de la région génitale (Nak et al., 2005 ; Santos et al., 2005).

Les tumeurs sur les organes génitaux externes apparaissent initialement comme de petites papules hyperhémiques évoluant ensuite vers un nodule jusqu'à des stades où les tumeurs peuvent se présenter sous forme de masses lobulées, « en chou-fleur » ou pédiculées. La consistance de la tumeur est friable avec de très fréquentes zones d'inflammation et d'ulcération superficielle associées à des saignements (Das et Das, 2000 ; Ganguly et al., 2013 ; Crozet, 2018).

4.2. Localisation génitale.

La TVTC affecte fréquemment les organes génitaux externes chez les deux sexes de l'espèce canine. Chez le mâle, la tumeur est généralement localisée dans la partie caudale du pénis, le gland et occasionnellement sur le prépuce. Chez la femelle, cette tumeur est souvent retrouvée à la jonction du vestibule et du vagin postérieur et occasionnellement sur l'orifice urétral (Madewell, 2001). Les chiens atteints de cette maladie expriment de la douleur, des hémorragies et manifestent un écoulement séro-sanguinolent dans les organes génitaux externes. La tumeur apparaît généralement en forme de chou-fleur, friable et de couleur rouge. L'état général de l'animal atteint n'est pas altéré sauf si la tumeur devient nécrotique et s'infecte ou obture l'orifice urétral ou métastase (Gandotra, 2014).

4.3. Localisation extra-génitale.

Cette tumeur peut aussi se développer dans des sites extra-génitaux tel que la peau, les tissus sous-cutanés, autour et dans les cavités nasale et orale. Les tumeurs extra-génitales sont bien circonscrites et peuvent mesurer 25cm (Das et Das, 2000). Les métastases sont rares, mais elles peuvent se développer, particulièrement chez les chiots et les chiens immunodéprimés. Ces métastases sont souvent considérées comme des extensions mécaniques de la tumeur primaire ; cependant, des métastases peuvent se rencontrer dans les nœuds lymphatiques inguinaux, mais peuvent aussi être retrouvée dans la peau, le cerveau, l'œil, le foie, la rate, le testicule et le muscle (Park et al., 2006).

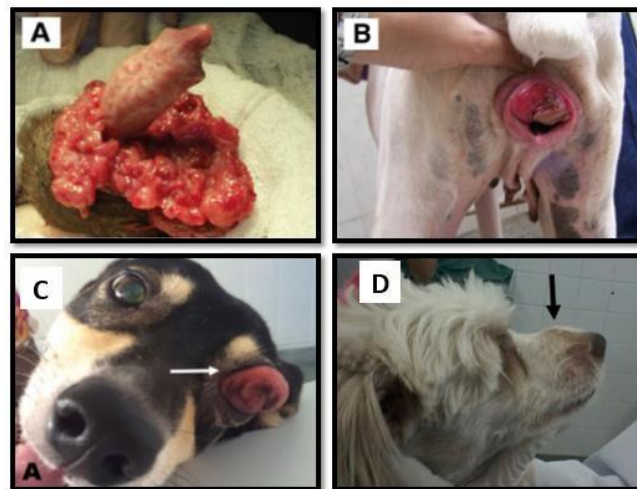


Figure 08 : Tumeur Vénérienne Transmissible Canine à localisation génitale (A : chien ; B : chienne) et extra génitale (C : oculaire ; D : nasale) d'après (Fontes Veloso et al., 2018 ; Abeka, 2019).

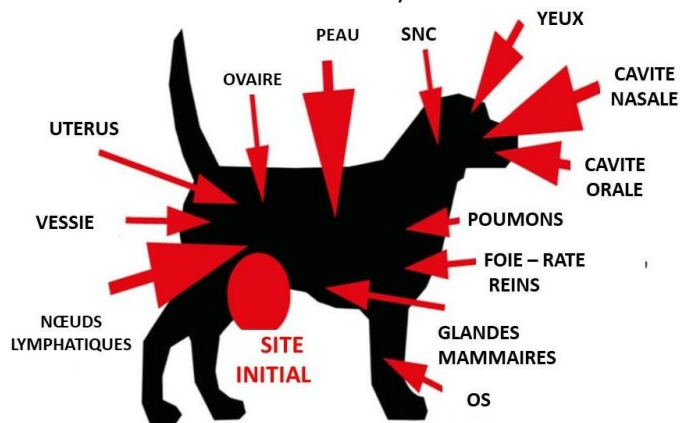


Figure 09 : Sites métastatiques de la TVTC Modifié d'après (Trakova et Murchison, 2014).

5. Diagnostic de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine.

Le diagnostic de la TVTC peut être établi sur la base de la clinique, l'histologie, la cytologie, la cytogénétique et d'autres techniques moléculaires (Setthawongsin et al. 2016).

Le diagnostic par PCR, basé sur le principe d'identification de l'élément LINE1 sur le gène MYC de la TVTC, semble être plus précis que toutes les autres techniques. Le test PCR (LINE1-c-MYC) réalisé à partir d'un prélèvement obtenu par aspiration à l'aiguille fine (FNA), permet de différencier entre l'histiocytome, le sarcome histiocytaire, le lymphome, le mastocytome, le carcinome à cellules basales, le mélanome amélanotique et l'inflammation chronique (Setthawongsin et al. 2016). Par contre, Silva et ses collaborateurs (2021) ont associé très récemment un diagnostic moléculaire à la classification cytomorphologique (par insertion de l'élément LINE-1 dans le gène C-MYC) de la TVTC, sans pouvoir ajouter aucun intérêt diagnostique différentiel en plus de la cytologie seule (Silva et al., 2021).

L'immunohistochimie réalisée à partir des préparations histologiques offre la possibilité de différenciation entre les tumeurs à cellules rondes contrairement à l'histologie seule.

Cependant, ces techniques cytogénétiques et moléculaires ne sont malheureusement pas des tests de routine, elles ne sont disponibles que dans les laboratoires spécialisés et sont de ce fait souvent réservées à la recherche. Ces techniques n'ont pas d'intérêt pratique pour le diagnostic des TVTC, notamment dans les conditions du terrain et de la clientèle vétérinaire. Pour cette raison, notre revue de la littérature sera focalisée sur le diagnostic clinique et anatomopathologique classique qui comprend la cytologie et l'histologie.

5.1. Diagnostic clinique.

Il est généralement possible de diagnostiquer cliniquement la TVTC quand elle a une localisation génitale et une morphologie évidente et grâce aussi à sa situation épidémiologique. Dans ce cas, le diagnostic clinique est basé sur trois aspects essentiels à savoir, la forme en chou-fleur, la consistance friable de la masse tumorale et son saignement facile (Das et Das, 2000 ; Ganguly et al., 2013 ; Crozet, 2018).

Cependant, cette forme en chou-fleur n'est pas obligatoire dans la TVTC et le caractère saignant pourrait être provoqué par des lésions traumatiques (par automutilation) d'autres tumeurs. En effet, certaines tumeurs à cellules rondes (histiocytome, mastocytome ...)

peuvent avoir des localisations génitales rendant la confusion avec la TVTC plus marquée. De plus, la TVTC peut avoir des localisations extra-génitales avec des formes nodulaires et polylobées qui se confondent parfaitement avec les autres tumeurs à cellules rondes (Veloso et al. 2018 ; Abeka, 2019 ; Punchkande et al., 2021).

Par ailleurs, compte tenu du caractère hémorragique de la TVTC ainsi que la présence d'écoulement sero-suanguinolent lors de localisation génitale, il est utile de la différencier des diverses étiologies du syndrome d'écoulement génital hémorragique. Ce diagnostic différentiel recrute d'autres examens complémentaires comme l'imagerie et la biologie médicale (Crozet, 2018).

Même si la TVTC ne métastase que rarement (chiot - chien immunodéprimé), il est très utile en diagnostic de faire un bilan d'extension à la recherche d'éventuelles métastases ganglionnaires, externes et intra-cavitaires. Les éventuelles localisations métastatiques sont présentées sur la figure 09 (Strakova et Murchison, 2014).

Ainsi, le diagnostic clinique seul semble être très limité et nécessite le recours à d'autres examens différentiels devant la suspicion d'une TVTC (Ganguly et al., 2013 ; Crozet, 2018 ; Abeka, 2019).

5.2. Diagnostic histologique et cytologique.

5.2.1. Choix entre histologie et cytologie

La TVTC est une tumeur à cellules rondes, mais elle n'est pas la seule, il existe d'autres tumeurs à cellules rondes rencontrés chez le chien qui peuvent être confondues avec la TVTC. Il s'agit du lymphome, mastocytome, histiocytome et du sarcome histiocytaire.

Sauf si elle est suivie d'immunohistochimie et d'autres techniques moléculaires, l'histologie du tissu tumoral est limitée dans la différenciation de la TVTC des autres tumeurs à cellules rondes. Ceci est dû au fait que les caractéristiques diagnostiques et différentielles de cette tumeur concernent la cellule isolée et non le tissu analysé dans son ensemble par histologie. De plus, les préparations cytologiques offrent une meilleure préservation du noyau (élément important dans la différenciation de la TVTC des tumeurs histologiquement similaires tel l'histiocytome), ainsi qu'une meilleure délimitation des bordures cytoplasmiques (Goldschmidt et Hendrick, 2003).

Ainsi, la cytologie seule s'avère être la méthode de choix dans le diagnostic de la TVTC (Goldschmidt et Hendrick, 2003 ; Pawaiya et al., 2006 ; Thangathurai et al., 2008 ; Gunguly et al., 2013 ; Abeka, 2019).

5.2.1. Cytologie de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine.

5.2.1.1. Diagnostic différentiel des tumeurs à cellules rondes.

En effet, Duncan et Prasse en 1979 ont rapporté des données cytologiques précises qui permettent de différencier la TVTC des autres tumeurs à cellules rondes (Duncan et Prasse, 1979).

Comme illustré dans la figure 10 et 11, les cellules du mastocytome sont rondes à noyaux excentrés mais se distinguent essentiellement par la présence de granulations cytoplasmiques denses et de taille uniforme (Voir figure 10- A). L'histiocytome présente de grandes cellules à cytoplasme abondants sans granulations ni vacuoles et surtout un noyau en forme de haricot dentelé (Voir Figure 10-B). Le lymphosarcome ou sarcome histiocytaire présente des cellules rondes avec noyau arrondi, un cytoplasme pâle, sans granulations ni vacuoles, un ratio nucléocytoplasmique bas et se distingue surtout par la présence de cellules géantes multinucléées (Voir Figure 10-C). La TVTC présente des cellules à noyau rond ou ovale de taille variable et se distingue surtout par une présence abondante de vacuoles cytoplasmiques claires à contours nets et des figures de mitose (Voir Figure 10-D).

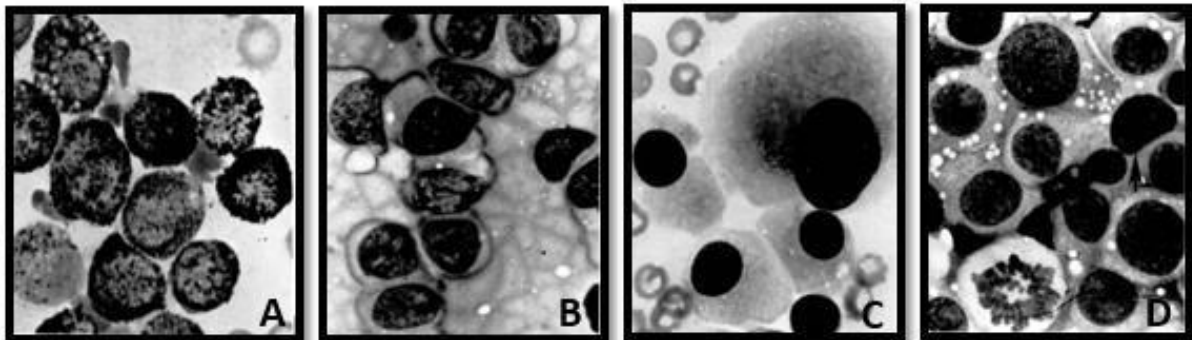


Figure 10 : Microphotographies de lames cytologiques des tumeurs à cellules rondes A : Mastocytome ; B : Histiocytome ; C : Lymphosarcome ; D: TVTC Colorant Wright d'après (Duncan et Prasse, 1979)

Ces caractéristiques cytologiques différentielles ont été regroupées en un algorithme ou arbre décisionnel qui a été présenté en version originale (en langue anglaise) par

Thangathurai et al., 2008 puis présenté modifié (en langue française) par Crozet en 2018 (Voir figure 11).

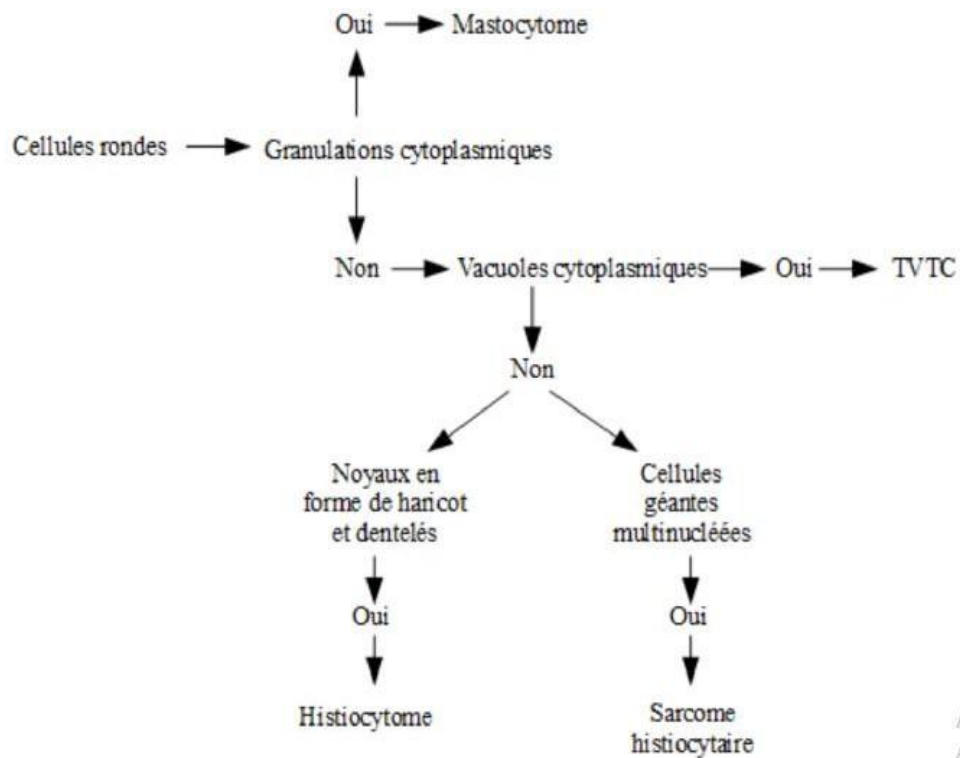


Figure 11 : Algorithme de diagnostic différentiel des tumeurs à cellules rondes modifié d'après (Duncan et Prasse, 1979 ; Thangathurai et al., 2008 ; Crezet, 2018).

5.2.1.2. Détermination du stade d'évolution tumorale.

Hill et ses collaborateurs (1984) ont rapporté des données ultrastructures qui permettent d'utiliser la cytologie comme un moyen de détermination de la phase d'évolution de la TVTC (Progression vs. Régression) et ce essentiellement en fonction de l'infiltration lymphocytaire (Voir Figure 12) des cellules tumorales (Hill et al., 1984). La figure 12 montre un lymphocyte (L) contre deux cellules tumorales (T) à noyau dense, irrégulier et rétracté et à cytoplasme vésiculaire. D'autres auteurs ont confirmé par la suite l'intérêt du nombre des lymphocytes infiltrant comme indicateur de la régression tumorale (Gonzalez et al., 2000 ; Mukaratirwa et al., 2006).

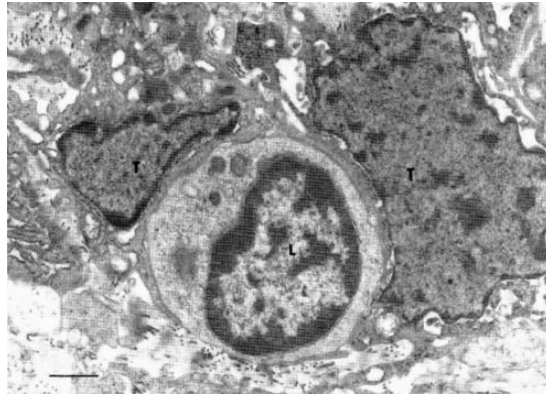


Figure 12 : Ultrastrure d'une TVTC en régression. Bar=1 μ m. D'après (Hill et al., 1984)

5.2.1.3. Classification cytomorphologique.

En 2007, Santos do Amaral et ses collaborateurs ont pu classer les TVTC en trois groupes cytomorphologiques à savoir lymphocytaire, plasmocytaire et mixte. La forme lymphocytaire (Voir figures 14-A ; 15-a) est constituée essentiellement (plus de 60% des cellules) de cellules lymphocytaires qui sont arrondies avec des noyaux concentrés et de cytoplasmes peu abondants (Voir Figure 13-A). La forme plasmocytaire (Voir figures 14-B ; 15-b) présente essentiellement (plus de 60% des cellules) des cellules plasmocytaires qui sont plutôt ovalaires avec un noyau excentré et un cytoplasme plus abondant (Voir Figure 13-B). La forme mixte (Voir figures 14-C ; 15-c) est celle qui présente les deux types de cellules mais sans qu'aucun ne dépasse les 59% des cellules.

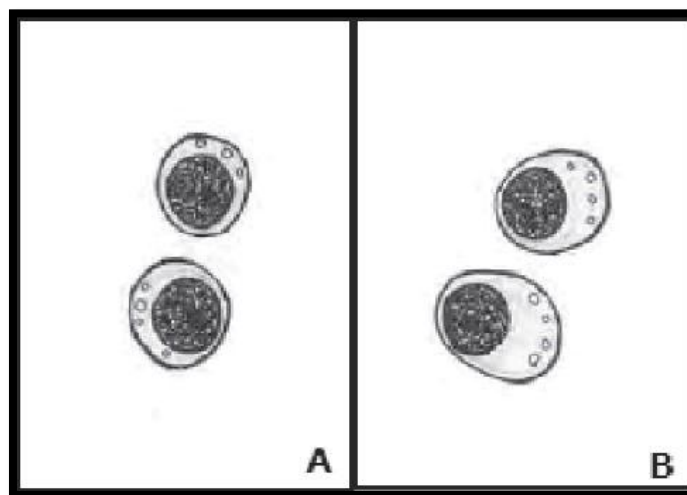


Figure 13 : Classes cytomorphologiques des cellules de TVTC. A : lymphocytaire. B : plasmocytaire d'après (Santos do Amaral et al., 2007).

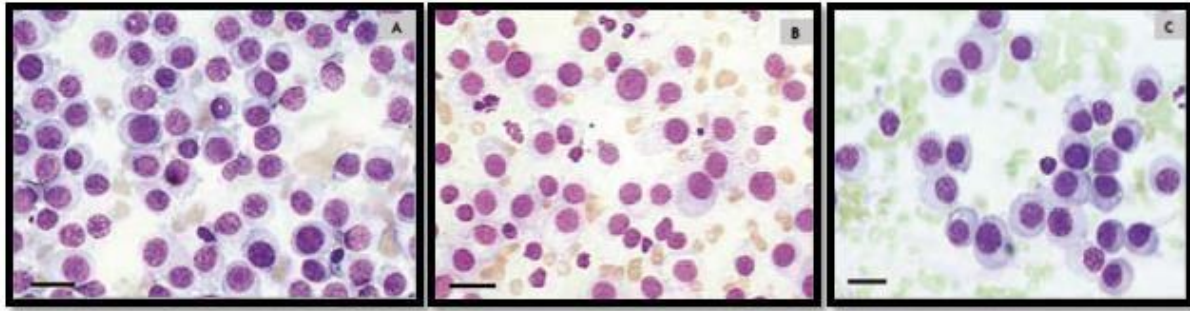


Figure 14 : Microphotographies de lames cytologiques de TVTC. A : Forme lymphocytaire. B : Forme Plasmocytaire. C : Forme mixte. Coloratio : Giemsa, bar : 20µm. D'après (Santos do Amaral et al., 2007).

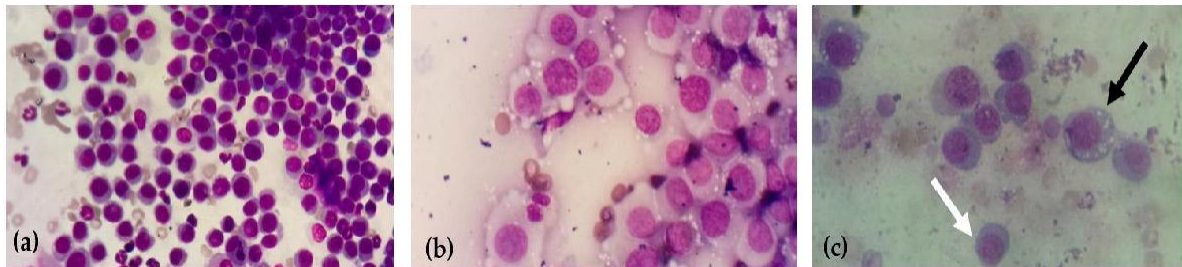


Figure 15 : Microphotographies de lames cytologiques de TVTC. (a) : Forme lymphocytaire. (b) : Forme Plasmocytaire. (c) : Forme mixte. Coloratio : Giemsa, bar : 20µm. D'après (Silva et al., 2021).

Ces auteurs ont démontré également que la forme plasmocytaire est la plus agressive et la plus résistante au traitement (Santos do Amaral et al., 2007). Plus tard, il a été démontré que ce caractère agressif et résistant est associée à l'expression d'une P-Glycoprotéine par ces cellules tumorales plasmocytaires (Gaspar et al., 2010). Le rôle de la P-glycoprotéine sera développé dans la section relative à la résistance au traitement du prochain chapitre.

En 2018, Setthawongsin et ses collaborateurs ont évalué la cytomorphométrie qui est une technique d'analyse d'image assistée par ordinateur, comme une technique différentielle entre les trois classes cytomorphologiques de la TVTC et également entre celle-ci et d'autres tumeurs à cellules rondes (mastocytome, histiocytome et lymphome). Ils ont démontré que la cytomorphométrie a un intérêt certain dans la différenciation entre ces tumeurs et aussi entre les formes lymphocytaire, plasmocytaire et mixte (Setthawongsin et al., 2018). Ils ont également confirmé le caractère agressif et résistant de la forme plasmocytaire des TVTC comme cité précédemment.

Les caractéristiques cytologiques d'une TVTC extra-génitale (Voir figure 16) ou métastatique sont identiques à la TVTC génitale, ce qui confère un caractère constant au diagnostic cytologique des TVTC quelles qu'en soient leurs localisations.

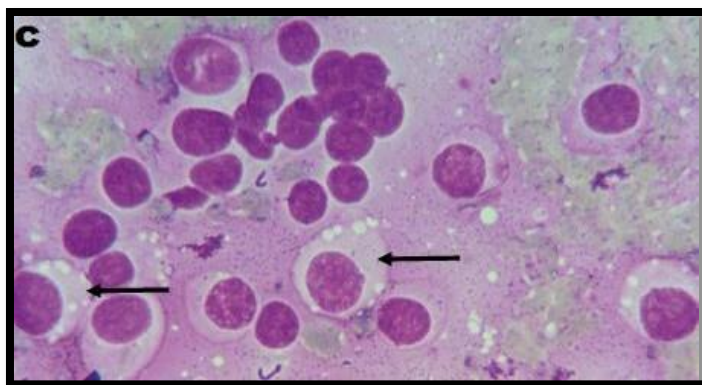


Figure 16 : Cytologie d'une TVTC à localisation nasale. D'après (Veloso et al., 2018).

6. Chimiothérapie de la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine.

Il existe plusieurs options thérapeutiques pour la TVTC à savoir l'excision chirurgicale, la chimiothérapie, la radiothérapie, l'immunothérapie et une combinaison de plusieurs méthodes (Abeka et al., 2019).

6.1. Avantages de la chimiothérapie.

Parmi ces méthodes, la chimiothérapie donne les résultats les plus prometteurs avec un taux de rémission de 100% pour les tumeurs traitées au stade précoce de leur progression qui ont généralement moins d'une année d'évolution. Les tumeurs plus anciennes, requièrent généralement une thérapie prolongée avec des taux de rémission inférieurs à 100% (Conguly et al., 2013 ; Abeka, 2019 ; Punchkande et al., 2021).

6.2. Chimiothérapie à la vincristine.

Plusieurs molécules antimitotiques et combinaisons de ces molécules ont été évaluées à savoir le cyclophosphamide, le méthotrexate, la vincristine, la vinblastine et la doxorubicine. Le sulfate de vincristine se révèle être le médicament de choix offrant le maximum d'efficacité, de sécurité et de convenance en monochimiothérapie et à la dose de 0.025mg/KG de PV ou 0.6mg/m² de surface corporelle (Martins et al., 2005 ; Conguly et al., 2013 ; Antonov, 2015 ; Hiblu et al., 2019).

6.2.1. Résistance à la vincristine.

L'utilisation extensive de la vincristine aurait conduit à l'émergence d'une résistance des TVTC à cette molécule (Gaspar et al., 2010). En cas de résistance avérée, d'autres molécules peuvent être utilisées avec succès comme la doxorubicin (Nak et al., 2005) et plus récemment la L-Asparginase (Setthawongsin et al., 2019) et la lomustine (Decuardo et al., 2021).

Cette résistance à la chimiothérapie représente un vrai défi dans le traitement des cancers de manière générale et les TVTC particulièrement. Divers facteurs peuvent contribuer à l'incidence d'une résistance Clinique à la chimiothérapie, et ce phénomène est appelé la résistance polychimiothérapeutique « MDR pour Multidrog Resistance » (Abeka, 2019).

Ce phénomène de résistance peut être attribué à plusieurs mécanismes multifactoriels, comme un défaut de régulation des gènes contrôlant l'apoptose, une intensification de la détoxification intracellulaire, des modifications dans les systèmes de réparation d'ADN, ou

une surexpression et activation de molécules, capables d'exporter les molécules anti mitotiques à l'extérieur de la cellule (Moore et al., 1995 ; Thomas et Coley, 2003).

6.2.2. Résistance polychimiothérapeutique.

Ce dernier mécanisme est le plus important dans le phénomène de résistance des cellules cancéreuses aux différentes drogues antimitotiques. Il est décrit comme une surexpression de molécules agissant comme pompes membranaires d'efflux, la plus connue étant la P-glycoprotéine, codée par le gène MDR1 et associée à la résistance polychimiothérapeutique « MDR ».

Comme illustré sur la figure 17, la P-glycoprotéine « P-gp » agit comme une pompe d'efflux membranaire, ATP-dépendante, qui assure la sortie des substances anticancéreuses vers l'extérieur de la cellule en réduisant sensiblement leur concentration intracellulaire et prévenant ainsi leur action (Tura et al., 2001). La P-gp est un substrat pour plusieurs molécules antimitotiques incluant la vincristine (Dantzig et al., 2002 ; Shepard et al., 2003).

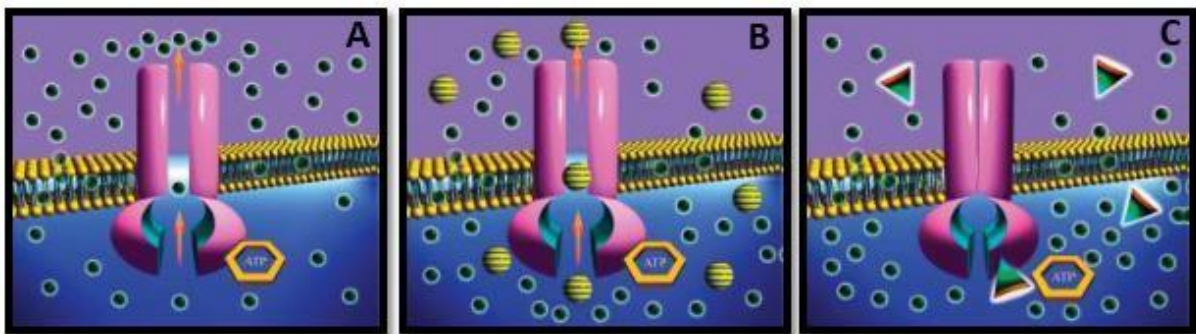


Figure 17 : Mécanismes d'action et d'inhibition de la P-glycoprotéine d'après (Thomas et Coley, 2003) A : Mécanisme d'action ; B : Inhibition compétitive ; C : Inhibition non compétitive

Il existe des inhibiteurs de la P-glycoprotéine, qui agissent par deux mécanismes d'action différents à savoir une inhibition compétitive et une inhibition non compétitive (Voir Figure 17 : B et C). En effet, les inhibiteurs ou modulateurs de première et seconde générations agissent comme un substrat, par compétition avec le médicament anticancéreux dans le transport par cette pompe membranaire. Ceci limite l'efflux de ce médicament et augmente sa concentration intracellulaire. Les inhibiteurs de troisième génération tel que le Tariquidar, se fixent fortement à la pompe sans se comporter comme un substrat. Cette fixation induit un changement dans la conformation de la P-gp, empêchant l'hydrolyse d'ATP et le transport du médicament anticancéreux vers l'extérieur de la cellule, ce qui augmente sa concentration intracellulaire (Tomas et Coley, 2003).

6.3. Protection des manipulateurs en chimiothérapie.

La manipulation des cytostatiques n'est pas sans danger pour les professionnels qui les utilisent. Dès les années 1970, la littérature a mentionné diverses problématiques liées à l'usage de ces médicaments : effets irritatifs, allergiques et généraux « céphalées, vertiges, chute de cheveux, atteinte hépatique, asthme, eczéma, etc. », cancérogènes, mutagènes « aberrations chromosomiques, échanges chromatides sœurs, micronoyaux » et reprotoxiques « avortement, stérilité, mortinaissance, malformations congénitales »(Bouaziz et al., 2017).

Selon l'OMS, l'exposition au risque de manipulation des médicaments anticancéreux est évaluée par le calcul de l'indice de contact cytotoxique (ICC) dont la formule :

$$ICC = nR + nA / Nh ;$$

- nR : nombre de préparations réalisées par une personne pendant une période déterminée ;
- nA : nombre d'administrations réalisées par la même personne pendant une période déterminée ;
- nH : nombre d'heures de présence de cette personne durant la période déterminée. L'ICC a été calculé sur une semaine de travail.

Cet indice permet de distinguer trois niveaux auxquels sont rattachées des précautions particulières :

- niveau 1 : ICC < 1 : préparation et administration de façon occasionnelle, nécessitant des mesures de prévention individuelle ;
- niveau 2 : 1 < ICC < 3 : préparation et administration en quantité modérée, nécessitant la mise en place d'une prévention collective (poste de sécurité cytostatique) ;
- niveau 3 : ICC > 3 : préparation et administration intensives, nécessitant la mise en place d'une unité de reconstitution centralisée.

Les moyens de protection individuelle sont tout simplement les gants en latex, les blouses, les masques et les lunettes ou visière. Les mesures de précautions standard stipulent qu'une paire de gant = un geste = un patient ». Les bonnes pratiques exigent même le port de deux paires de gants par geste et par patient (Bouaziz et al., 2017).

II. PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Lieu et période de l'étude :

Cette étude a été réalisée au niveau de la Plateforme Biotechnologique en Reproduction des carnivores de l'université de Blida 1 (Voir Annexe-C) durant la période allant du 04/02/2020 au 20/05/2021.



Figure 18 : Plateforme Biotechnologique en Reproduction des Carnivores/ Univ. Blida 1.

1.2. Matériel biologique « Animaux » :

Cette étude a été réalisée sur les 3 chiens identifiés dans le Tableau 01, appartenant à des particuliers et présentés en consultation au niveau de la PBRC.

Tableau 01 : Identification des chiens utilisés dans cette étude

Nom	Age (ans)	Sexe	Race
Reta	05	Femelle	Beagle X Braque allemand
Rosa	04	Femelle	Beagle X Braque allemand
Nicky	05	Male	BA X BBM

1.3. Matériels de laboratoire :

1.3.1. Matériel de diagnostic :

Le matériel utilisé pour le diagnostic et le suivi cytologique est représenté en détail dans les figures 19 et 20.



Figure 19 : Matériel utilisé pour le diagnostic et le suivi cytologique

Légende : 1 : Microscope Binoculaire à champ clair de marque Nikon E100. 2 : Lames porte objet. 3 : Lamelles couvert-objet (24x60mm) 4 : Coloration Diff-Quick® 5 : Fixateur cytologique. 6 : Colorant nucléaire. 7 : Colorant cytoplasmique. 8 : Pissette contenant de l'eau distillée. 9 : Coloration MG-G. 10 : Solution commerciale de montage (EUKITT®). 11 : Boite de rangement pour lames. 12 : Plateau d'interprétation de lames. 13 : Écouvillons. 14 : Fiche d'interprétation cytologique.

1.3.2. Matériel de chimiothérapie :



Figure 20 : Matériel utilisé pour la chimiothérapie

Légende : 1 : Balance. 2 : Tondeuse. 3 : Désinfectants. 4 : Matériels d'injection IV. 5 : Flacon de sulfate de Vincristine (VINCRISTINE®). 6 : Flacon d'eau PPI. 7 : Matériels de protection contre les produits antimétaboliques. 8 : Collecteur pour déchets antimétaboliques.

1.4. Méthodes :

1.4.1. Réalisation du prélèvement cytologique :

Le prélèvement cytologique a été réalisé par empreinte cytologique, qui se fait par apposition du tissu tumoral contre une lame porte objet.

Dans certains cas, il a été nécessaire de réaliser également un frotti cytologique par écouvillonnage.

1.4.2. Préparation et coloration du matériel cytologique :

Après apposition, la lame est séchée à l'air avant d'être fixée selon la technique de coloration, soit par trempage dans le 1^{er} bain du Diff-Quick®, soit par immersion dans un flacon de Méthanol pendant 10min dans le cas du MG-G.

Après fixation, la coloration est réalisée par trempage 10 à 15 fois successivement dans le 2^{ème} et le 3^{ème} flacon du Diff-Quick® en éliminant l'excédent de colorant entre les 2 bains de coloration grâce au papier buvard. Dans certains cas, une coloration MG-G est réalisée afin de comparer entre cette coloration et le Diff-Quick® qui n'est autre qu'un MG-G modifié et simplifié.

En fin de coloration, la lame est rincée par un faible jet d'eau sur la face qui ne porte pas le matériel cytologique, puis laissée sécher avant la lecture.

Ensuite, la lame est montée au moyen d'une lamelle couvre-objet et d'une solution commerciale de montage (EUKITT®) pour une meilleure qualité de lecture et de conservabilité.

Les lames montées sont conservées dans une boîte de rangement jusqu'à lecture.

1.4.3. Lecture et interprétation des lames :

Les lames sont disposées sur un plateau de lecture et observées au moyen d'un microscope binoculaire à champs clair (Nikon E100), d'abord au grossissement x100 pour une appréciation globale de la qualité de la lame puis au grossissement x400 voire x1000 avec immersion pour l'identification et le comptage des cellules.

L'interprétation est faite par exploitation d'une fiche conçue spécialement à cet effet sur la base des travaux de Duncan et Prasse en 1979, Hill et ses collaborateurs en 1984, Santos do Amaral et coll. en 2007 ainsi que Gaspar et coll. en 2010.

Cette fiche d'interprétation (Voir annexe B) est divisée en 9 sections qui se présentent comme suit :

- Renseignements de l'animal.
- Renseignements recueillis auprès du vétérinaire ayant référé le cas.
- Diagnostic différentiel d'un écoulement génital sanguinolent.
- Description et modification de la lésion.
- Type de prélèvement cytologique.
- Technique de coloration.
- Grossissement microscopique.
- Interprétation cytologique : Cellules, cytoplasme, noyaux ...
- Diagnostic cytologique et classification cytomorphologique

L'interprétation cytologique est basée essentiellement sur la différenciation entre la TVTC et les autres tumeurs à cellules rondes, à savoir le lymphome le mastocytome, l'histiocytome et le sarcome histiocytaire selon l'arbre décisionnelle rapporté par Duncan et Prasse en 1979.

La classification cytomorphologique des TVTC est faite par différenciation des formes plasmocytaire, lymphocytaire ou mixte de cette tumeur selon les caractéristiques cytologiques rapportées dans les travaux de Santos do Amaral et ses collaborateurs en 2007 ainsi que Gaspar et coll. en 2010.

Enfin, le stade d'évolution (Progression/Régression) de la TVTC est déterminé en fonction de l'infiltration ou non des cellules tumorales par les lymphocytes sur la base des données rapportées par Hill et ses collaborateurs en 1984 et confirmées plus tard par d'autres auteurs (Gonzalez et al., 2000 ; Mukaratirwa et al., 2006).

1.4.4. Suivi clinique et cytologique :

Après confirmation du diagnostic cytologique de la TVTC, un suivi hebdomadaire est effectué avant chaque séance de chimiothérapie jusqu'à la fin du traitement par appréciation visuelle de la régression lésionnelle (Prise de photographies de la lésion) et par empreinte cytologique.

Les données photographiques et cytologiques du suivi sont consignées sur les fiches d'interprétations à fin d'être exploitées par la suite.

1.4.5. Monochimiothérapie à la Vincristine :

Après confirmation du diagnostic cytologique d'une TVTC, une monochimiothérapie hebdomadaire à la Vincristine a été initiée, à la dose de 0.75mg/m² de surface corporelle par administration intraveineuse stricte et lente. Le traitement est prolongé jusqu'à rémission clinique et cytologique ou un maximum de 6 séances.

La surface corporelle a été estimée sur la base du poids vif et de la taille au garrot de l'animal selon la relation suivante où SC signifie surface corporelle en m², PV est le poids vif en kg et T la taille au garrot en cm :

$$SC = \sqrt{\frac{PV * 3600}{T}}$$

La vincristine est un alcaloïde extrait de la plante de pervenche, appartenant aux poisons classiques du fuseau, qui se lie à la protéine microtubulaire (tubuline) et empêchent sa polymérisation et la formation des microtubules bloquant ainsi les cellules pendant la métaphase. Elle est utilisée comme antimitotique dans la chimiothérapie de plusieurs cancers, et a prouvé son efficacité dans le traitement de la TVTC.

Le médicament utilisé porte le nom commercial de VINRACINE®, Korea united pharm.inc, présenté en flacon de 1ml, dosé à 1mg/ml.

La dose hebdomadaire de chimiothérapie est préparée en fonction de la concentration du médicament (1mg/ml) et de la surface corporelle de l'animal par simple règle de trois. Pour éviter les erreurs de mesure des faibles volumes, une dilution de la solution de base (VINRACINE) à l'eau PPI a été effectuée.

La préparation des doses de chimiothérapie et la manipulation de la vincristine sont faites dans le respect stricte de précautions sanitaires contre le danger d'inhalation et de projection de ce produit antimitotique et ce conformément aux recommandations et normes en vigueur (Port de double gants, masque et visière). Cette préparation est faite juste avant la séance de chimiothérapie pour éviter de conserver la vincristine diluée.

Une fois la dose de chimiothérapie prête, le lieu d'injection sur la veine radiale est tondu puis convenablement désinfecté. Le reste de l'avant-bras est couvert d'un champ chirurgical stérile et le produit administré par voie intraveineuse stricte et lente au moyen d'un dispositif d'injection IV adapté. Afin d'éviter l'extravasation du produit et le risque d'effet nécrosant sur les tissus péri-veineux, la position intravasculaire est vérifiée plusieurs fois jusqu'à la fin de l'administration.

Le matériel à usage unique utilisé est éliminé dans un collecteur réservé uniquement aux déchets antimitotiques, qui sera détruit ultérieurement par incinérateur des déchets médicaux (au niveau de l'hôpital).

RESULTATS

2. RESULTATS

2.1. Présentation du cas n° 01 :



Figure 21 : Photographie de la chienne RETA

2.1.1. Présentation générale du cas.

RETA (Figure 21) est une chienne issue d'un croisement Beagle X Braque Allemand, âgée de 05 ans, présentée en consultation à la clinique de la PBRC le 04/02/2020 pour présence d'une masse au niveau vulvaire avec écoulement sanguinolent évoluant depuis près d'un mois. A l'examen clinique un léger amaigrissement a été constaté. Le bilan d'extension à la recherche d'éventuelles métastases est revenu négatif.

2.1.2. Diagnostic différentiel d'un écoulement génital sanguinolent.

Des examens complémentaires ont été réalisés afin d'éliminer les nombreuses étiologies incriminées lors d'écoulements vulvaires sanguinolents. Le frotti vaginal de détermination du stade du cycle a montré que le chienne est en metœstrus, l'examen cyto bactériologique des urines et l'échographie abdomino-pelvienne ont confirmés l'absence de cystite, d'urétrite et tumeurs vésicale/urétrale.

2.1.3. Description et localisation de la lésion.

L'examen de l'appareil génital nous a permis de constater la présence d'une masse tumorale lobulée, sessile (non pédiculée), de couleur rouge vif, friable, très hémorragique, non ulcérée, qui siège au niveau du vestibule du vagin. Une vaginoscopie a été réalisée délicatement sans dépasser les limites claires de la lésion, par crainte d'expansion

mécanique des cellules tumorales. Cet examen a montré que la tumeur s'étend jusqu'à l'entrée du vagin postérieur (Jonction vestibulo-vaginale).



Figure 22 : Photographie de la lésion tumorale chez la chienne RETA

2.1.4. Diagnostic cytologique différentiel des tumeurs à cellules rondes.

Une empreinte cytologique a été réalisée et les cellules observées sous microscope sont des cellules rondes, à noyau arrondi et concentrique. La forme des noyaux a permis d'éliminer l'histiocytome et l'absence de granulations cytoplasmiques d'éliminer le mastocytome. La présence de quelques figures de mitose et de nombreuses vacuoles cytoplasmiques claires est spécifique à la TVTC.

2.1.5. Classification cytomorphologique de la TVTC.

La prédominance (>60%) de la forme cellulaire arrondie à noyau légèrement excentré avec un cytoplasme peu abondant non granuleux, et un rapport nucléocytoplasmique faible, nous oriente vers une forme lymphocytaire de cette TVTC.

2.1.6. Stade d'évolution de la TVTC.

L'absence d'une infiltration lymphocytaire sur la première lame réalisée avant le début du traitement va en faveur de la phase de progression ou éventuellement de la phase statique de l'évolution tumorale.

L'infiltration lymphocytaire des cellules tumorales observée une semaine après le début du traitement (Figure 24-B'), puis devenue plus importante après deux séances de chimiothérapie, (Figure 24-C') signifie que la tumeur est passée en phase de Régression. Ceci

indique que le système immunitaire a repris le dessus sur la prolifération des cellules tumorales.

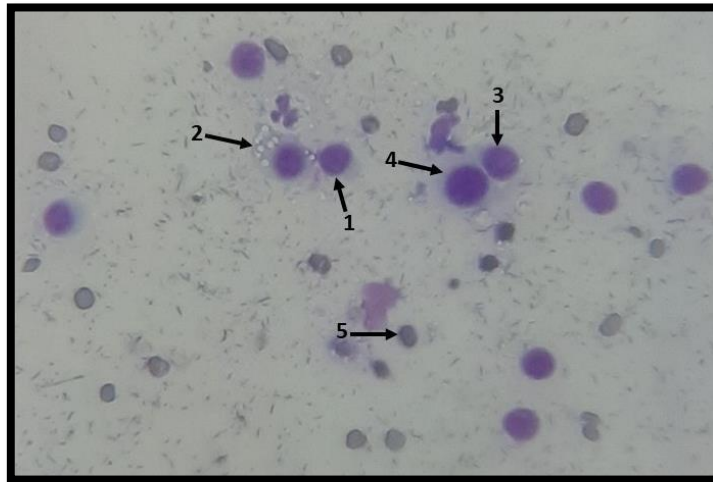


Figure 23 : Microphotographie d'une lame d'empreinte cytologique de la chienne RETA avant traitement. Grossissement : x400, coloration : Diff-Quick®

Légende : 1 : Cellule tumorale de forme arrondie. 2 : Vacuoles cytoplasmique. 3 : Noyau. 4 : Cytoplasme. 5 : Hématies

2.1.7. Monochimiothérapie à la vincristine.

Après confirmation du diagnostic cytologique d'une TVTC une monochimiothérapie hebdomadaire à la Vincristine ($0.75\text{mg}/\text{m}^2$) a été mise en place par administration intraveineuse stricte et lente pendant 4 semaines.

2.1.8. Suivi clinique et cytologique hebdomadaire pendant le traitement.

La figure 24 montre la régression tumorale sous l'effet de la vincristine depuis figure 24-A jusqu'à figure 24-D. Ceci est associé à une rémission cytologique de la TVTC objectivée par une diminution des vacuoles cytoplasmiques et des figures de mitose (Figure 24 : A' – D'). La rémission presque complète de cette TVTC est obtenue au bout de 4 séances de vincristine.

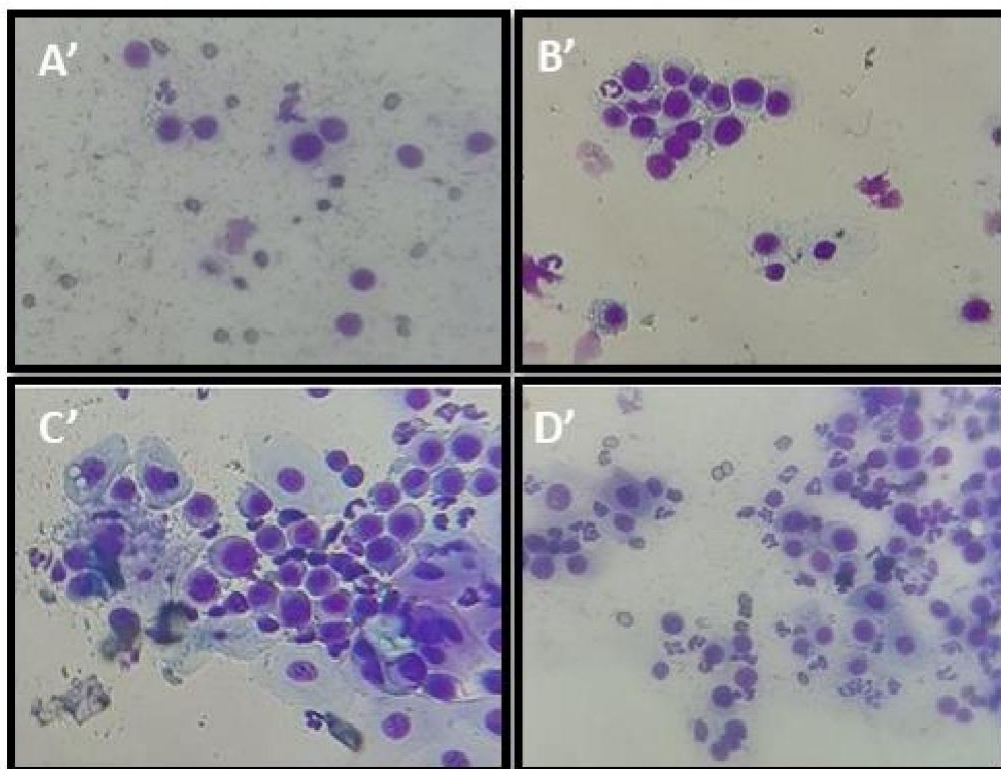
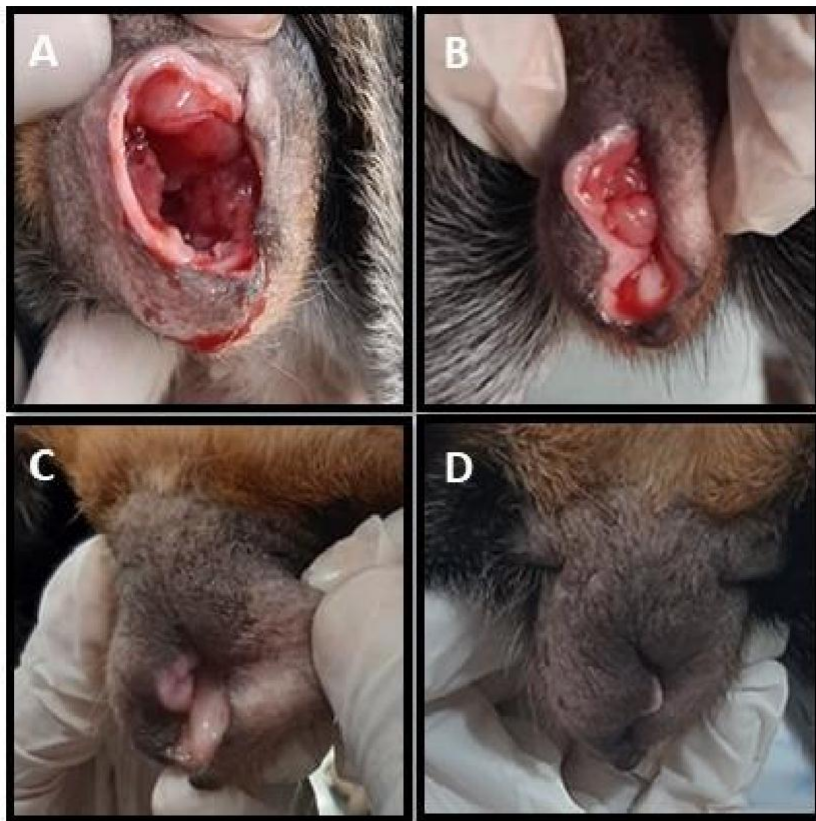


Figure 24 : Photographies de lésions (A-D) et microphotographies de lames (A'-D') avant et pendant le traitement hebdomadaire à la Vincristine d'une TVTC chez la chienne RETA.

2.2. Présentation du cas n° 02 :



Figure 25 : Photographie de la chienne ROSA

2.2.1. Présentation générale du cas.

ROSA (Figure 25) est une chienne issue d'un croisement Beagle X Braque Allemand, âgée de 04 ans, présentée en consultation à la clinique de la Plateforme Biotechnologique en Reproduction des Carnivores le 02/02/2021 à cause de l'apparition d'une masse extériorisée au niveau de la vulve avec présence d'écoulements vulvaires sanguinolents depuis trois mois. A l'examen clinique la chienne semblait abattue et cachectique. Le bilan d'extension à la recherche d'éventuelles métastases est revenu négatif.

2.2.2. Diagnostic différentiel d'un écoulement génital sanguinolent.

Des examens complémentaires ont été réalisés afin d'éliminer les nombreuses étiologies incriminées lors d'écoulements vulvaires sanguinolents. Le frotti vaginal de détermination du stade du cycle a montré que la chienne est en metœstrus, l'examen cytbactériologique des urines et l'échographie abdomino-pelvienne ont confirmés l'absence de cystite, d'urétrite et tumeurs vésicale/urétrale.

2.2.3. Description et localisation de la lésion.

L'examen de l'appareil génital montre la présence d'une masse tumorale lobulée, sessile, en chou-fleur faisant saillie par la vulve, rougeâtre, suintante, hémorragique, mais non ulcérée. Cette masse obture littéralement la fente vulvaire rendant impossible l'exploration du vestibule et du vagin pour vérifier l'étendue de cette tumeur.

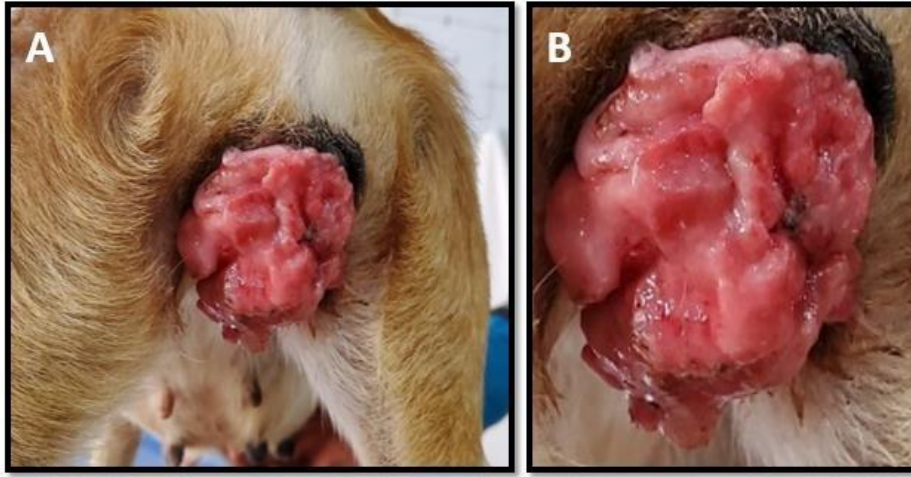


Figure 26 : Photographie de la tumeur chez la chienne ROSA.
A : Vue éloignée, **B :** Vue rapprochée.

2.2.4. Diagnostic cytologique différentiel des tumeurs à cellules rondes.

Une empreinte cytologique a été réalisée et les cellules observées sous microscope sont des cellules rondes, à noyau arrondi et concentrique. La forme des noyaux a permis d'éliminer l'histiocytome et l'absence de granulations cytoplasmiques d'éliminer le mastocytome. La présence de quelques figures de mitose et de nombreuses vacuoles cytoplasmiques claires est spécifique à la TVTC.

2.2.5. Classification cytomorphologique de la TVTC.

La prédominance (>60%) de la forme cellulaire arrondie à noyau légèrement excentré avec un cytoplasme peu abondant non granuleux, et un rapport nucléocytoplasmique faible, nous oriente vers une forme lymphocytaire de cette TVTC

2.2.6. Stade d'évolution de la TVTC.

L'absence d'une infiltration lymphocytaire sur la première lame réalisée avant le début du traitement va en faveur de la phase de progression ou éventuellement de la phase statique de l'évolution tumorale.

L'infiltration lymphocytaire des cellules tumorales observée une semaine après le début du traitement (Figure 28-B'), puis devenue plus importante après deux séances de chimiothérapie, (Figure 28-C') signifie que la tumeur est passée en phase de Régression. Ceci indique que le système immunitaire a repris le dessus sur la prolifération des cellules tumorales.

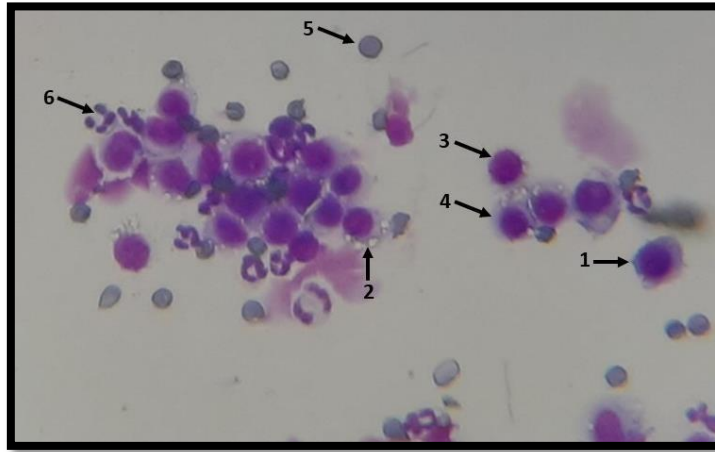


Figure 27 : Microphotographie d'une lame d'empreinte cytologique de la chienne ROSA avant traitement. Grossissement : x400, coloration : Diff-Quick®

Légende : 1 : Cellule tumorale de forme arrondie. 2 : Vacuoles cytoplasmique. 3 : Noyau. 4 : Cytoplasme. 5 : Hématies. 6 : Polymorphonucléaires

2.2.7. Monochimiothérapie à la vincristine.

Après confirmation du diagnostic cytologique d'une TVTC une mono-chimiothérapie hebdomadaire à la Vincristine ($0.75\text{mg}/\text{m}^2$) a été mise en place par administration intraveineuse stricte et lente pendant 4 semaines.

2.2.8. Suivi clinique et cytologique hebdomadaire pendant le traitement.

La figure 28 montre la régression tumorale graduelle d'une semaine à une autre sous l'effet de la vincristine depuis la figure 28-A jusqu'à figure 28-D. Ceci est associé à une rémission cytologique de la TVTC objectivée par une diminution des vacuoles cytoplasmiques et des figures de mitose (Figure 28 : A' – D'). La rémission presque complète de cette TVTC est obtenue au bout de 4 séances de vincristine.

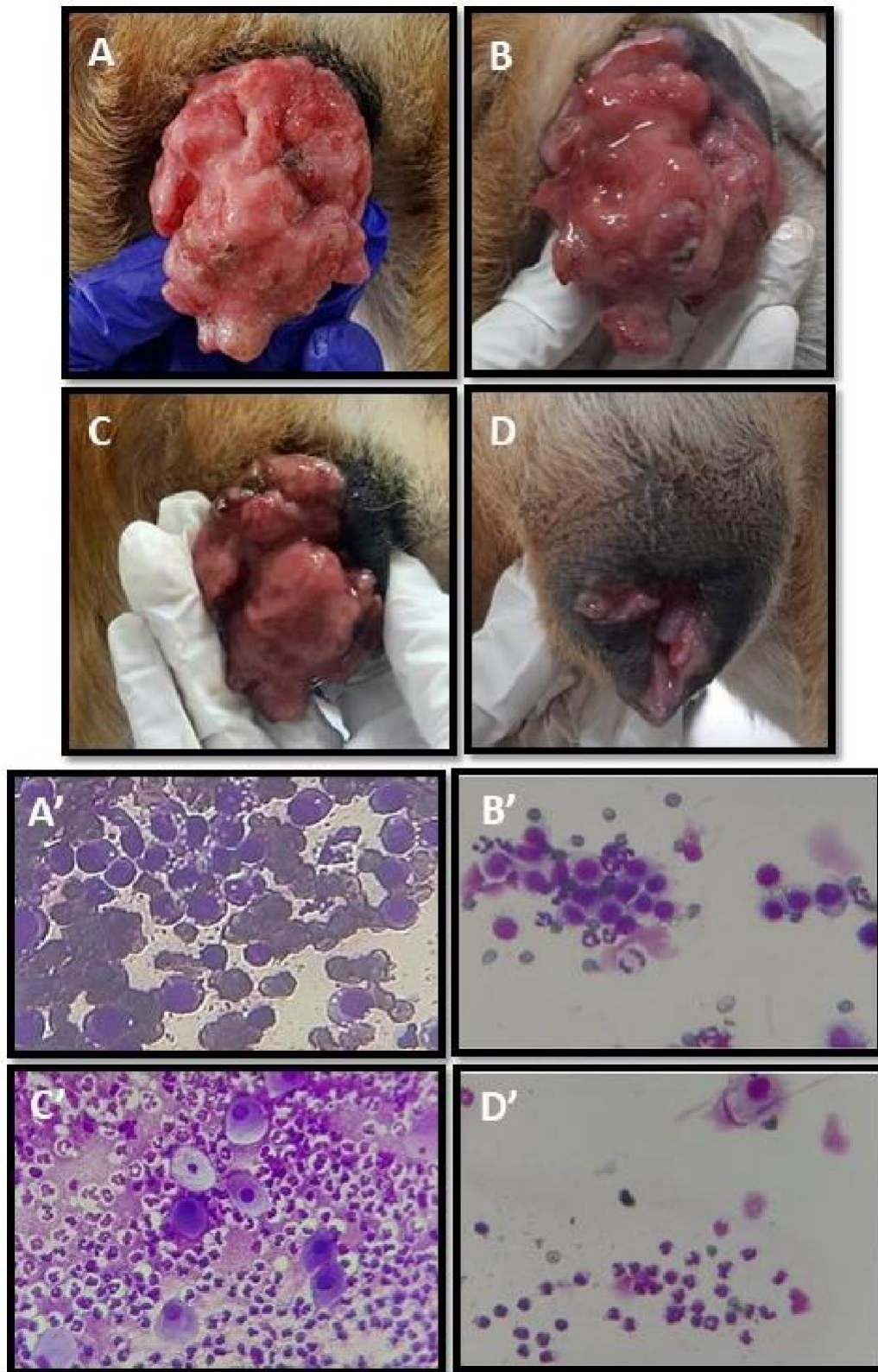


Figure 28 : Photographies de lésions (A-D) et microphotographies de lames (A'-D') avant et pendant le traitement hebdomadaire à la Vincristine d'une TVTC chez la chienne ROSA.

2.3. Présentation du cas n° 03



Figure 29 : Photographie du chien Nicky

2.3.1. Présentation générale du cas.

Nicky (Figure 29) est un chien issu d'un croisement entre un Berger Allemand et un Berger belge malinois, âgée de 05 ans, présenté en consultation à la clinique de la Plateforme Biotechnologique en Reproduction des Carnivores le 08/04/2021 à cause d'une récurrence de TVTC, localisée au niveau de la tête du pénis avec présence d'écoulements sanguinolents depuis plusieurs mois. Présentant un bon état général lors de l'examen clinique. Le bilan d'extension à la recherche d'éventuelles métastases est revenu négatif.

2.3.2. Diagnostic différentiel d'un écoulement génital sanguinolent.

Des examens complémentaires ont été réalisés afin d'éliminer les nombreuses étiologies incriminées lors d'écoulements vulvaires sanguinolents. Un examen cyto bactériologique des urines et une échographie abdomino-pelvienne ont confirmé l'absence de toutes affections de la prostate, de l'urètre et de la vessie.

2.3.3. Description et localisation de la lésion.

L'examen de l'appareil génital du chien Nicky montre la présence sur le gland du pénis, de plusieurs grandes papules confluentes pour donner une masse tumorale lobulée, sessile (non pédiculée), rappelant vaguement la forme en chou-fleur. Cette masse est rougeâtre, suintante, hémorragique avec présence de plusieurs plaies inflammatoires et de tissus de cicatrisation provoqués par un comportement d'automutilation. L'exploration de la base du pénis n'a mis en évidence aucune autre masse. Cette tumeur n'obstrue pas l'orifice urétral et la miction se faisait normalement.

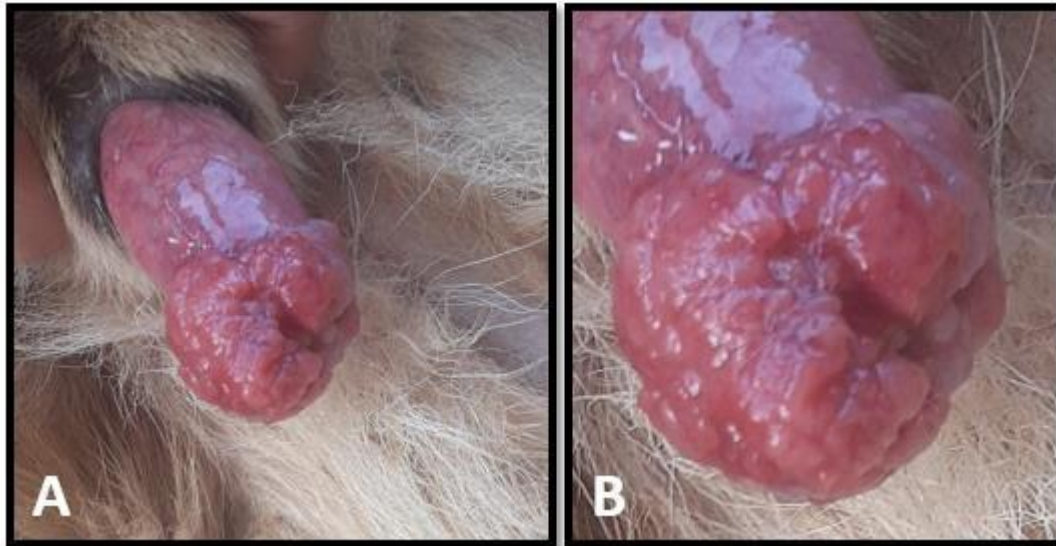


Figure 30 : Photographie de la lésion tumorale du chien Nicky.
A : Vue éloignée, **B :** Vue rapprochée.

2.3.4. Diagnostic cytologique différentiel des tumeurs à cellules rondes.

Une empreinte cytologique a été réalisée et les cellules observées sous microscope sont des cellules rondes, à noyau arrondi et concentrique. La forme des noyaux a permis d'éliminer l'histiocytome et l'absence de granulations cytoplasmiques d'éliminer le mastocytome. La présence de quelques figures de mitose et de nombreuses vacuoles cytoplasmiques claires et à bords nets qui sont spécifiques à la TVTC.

2.3.5. Classification cytomorphologique de la TVTC.

Lors de la lecture des lames une prédominance de cellules ovoïdes présentant un noyau clairement excentré avec un cytoplasme abondant non granuleux, et un rapport N/C très faible, a été observée, ce qui nous oriente vers la forme Plasmocytaire de ce cas de TVTC.

2.3.6. Stade d'évolution de la TVTC.

L'absence d'une infiltration lymphocytaire sur la première lame réalisée avant le début du traitement va en faveur de la phase de progression ou éventuellement de la phase statique de l'évolution tumorale.

Pendant le traitement, il n'y a pas eu d'évidence cytologiquement parlant d'une importante infiltration lymphocytaire des cellules tumorales ce qui ne permet pas de parler d'un passage de cette TVTC de la phase de progression à la phase de régression. Parallèlement, la

Régression clinique de la tumeur se fait très lentement (6 semaines) ce qui signifie une résistance à l'effet de la vincristine.

La figure 32 montre par ailleurs la présence abondante de granulocytes ce qui est indicateur de réaction inflammatoire provoquée et entretenue par les lésions ulcératives d'automutilation présentes sur la tumeur. Ce comportement a été confirmé par la propriétaire du chien lors de l'anamnèse.

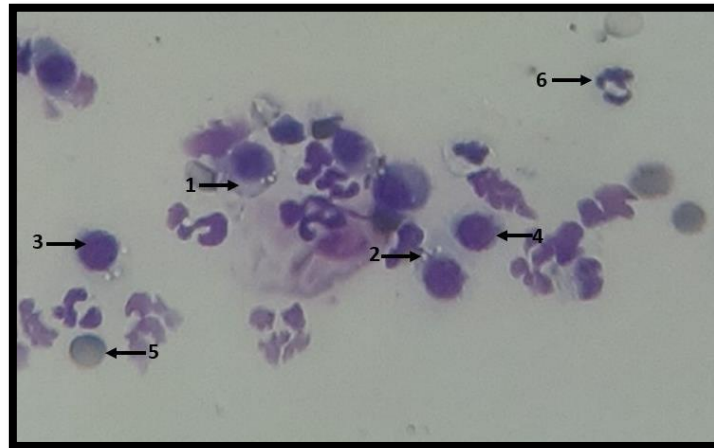


Figure 31 : Microphotographie d'une lame d'empreinte cytologique du chien Nicky avant traitement. Grossissement : x400, coloration : Diff-Quick®

Légende : 1 : Cellule tumorale de forme ovoïde. 2 : Vacuoles cytoplasmique. 3 : Noyau. 4 : Cytoplasme. 5 : Hématies. 6 : Polymorphonucléaires

2.3.7. Monochimiothérapie à la vincristine.

Après confirmation du diagnostic cytologique d'une TVTC une monochimiothérapie hebdomadaire à la Vincristine ($0.75\text{mg}/\text{m}^2$) a été mise en place par administration intraveineuse stricte et lente pendant 6 semaines.

2.3.8. Suivi clinique et cytologique hebdomadaire pendant le traitement.

La figure 32 montre une régression tumorale très légère même après 6 séances de chimiothérapie à la vincristine. La comparaison de la figure 32-A (lésion avant traitement) et la figure 32-F (lésion après fin de traitement) met en évidence cette régression timide de la TVTC qui évolue chez le chien depuis près de 2 ans. Ceci représente un cas de résistance à la chimiothérapie (vincristine).

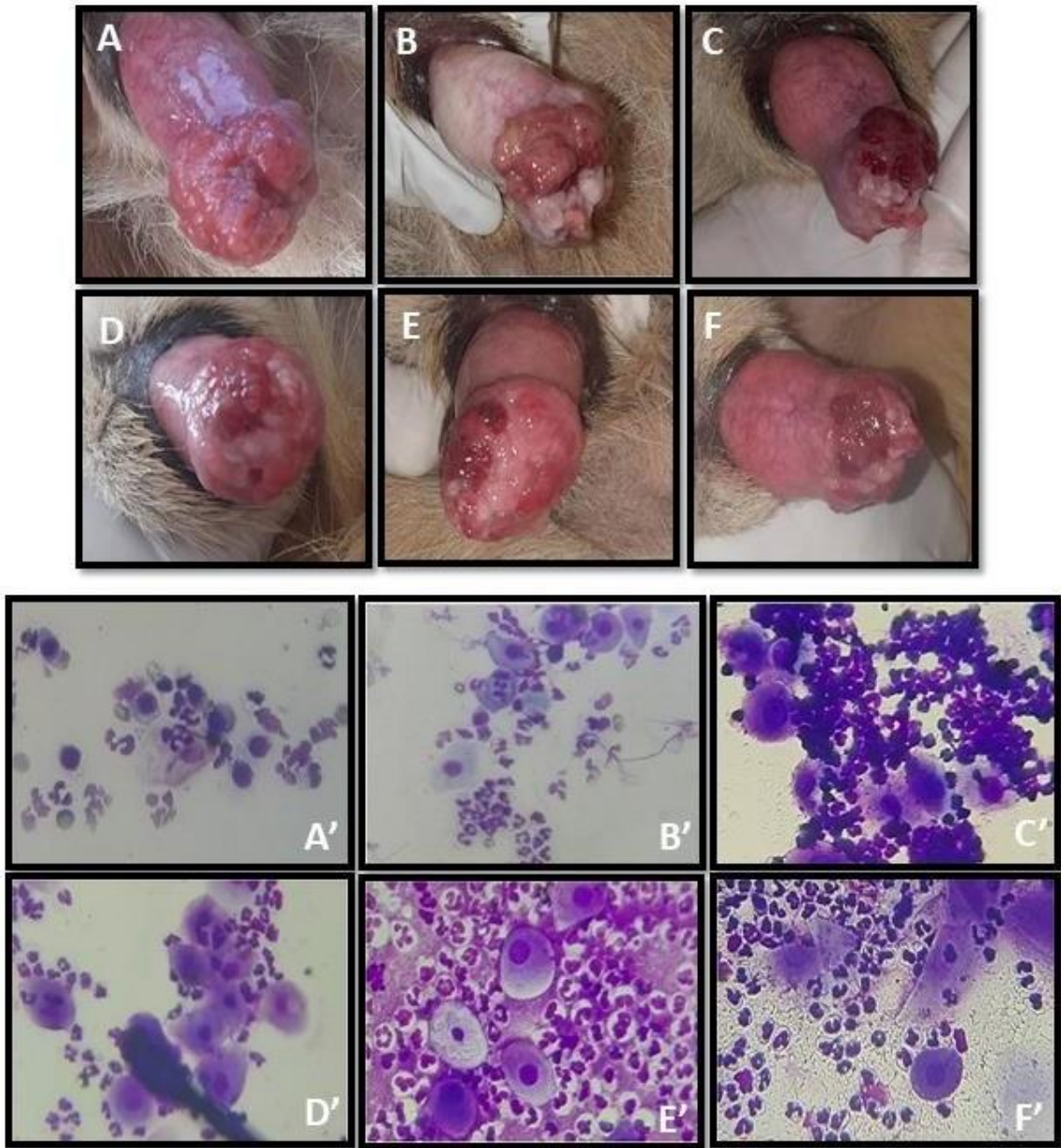


Figure 32 : Photographies de lésions (A-D) et microphotographies de lames (A'-D') avant et pendant le traitement hebdomadaire à la Vincristine d'une TVTC chez le chien NICKY.

DISCUSSION

4. DISCUSSION

La TVTC est une tumeur à cellules rondes pouvant avoir diverses localisations génitales et extra-génitales. Il existe quatre autres tumeurs à cellules rondes (TCR) rencontrées chez le chien et pouvant être confondues avec la TVTC, il s'agit du lymphome, mastocytome, histiocytome et du sarcome histiocytaire. Cette confusion existe lors d'une TVTC extra-génitale et inversement, lors d'une localisation génitale des autres tumeurs. Le mastocytome cutané canin a été trouvé en région ano-génitale chez 23% des chiens dans une étude française (Polle, 2008) et l'histiocytome fibreux au niveau du vestibulaire chez la chienne (Pole, 2008 ; Mayoral, 2017).

La présente étude vise à évaluer l'intérêt de la cytologie dans le diagnostic, le pronostic ainsi que le suivi thérapeutique de la TVTC, et les résultats suggèrent que la cytologie reste la technique de choix dans le diagnostic des TVTC, ce qui est en accord avec la littérature (Goldschmidt et Hendrick, 2003 ; Pawaiya et al., 2006 ; Silva et al., 2021).

L'histopathologie est une technique de routine dans l'analyse des tumeurs de manière générale, cependant elle s'avère limitée dans la différenciation de la TVTC des autres TCR. En effet, les caractéristiques diagnostiques et différentielles de la TVTC sont d'ordre individuel et concernent la cellule isolée et non le tissu analysé dans son ensemble. De plus, les préparations cytologiques offrent une meilleure préservation du noyau qui est un élément important dans la différenciation de la TVTC des tumeurs histologiquement similaires tel l'histiocytome.

Par ailleurs, si l'histologie est dépendante de l'immunohistochimie ou des autres techniques cytogénétiques (Hybridation In Situ) pour pouvoir différencier la TVTC des autres TCR, la cytologie ne semble pas avoir cette dépendance. En effet, Silva et ses collaborateurs (2021) ont très récemment évalué l'association d'un diagnostic moléculaire à la classification cytomorphologique (par insertion de l'élément LINE-1 dans le gène C-MYC) de la TVTC, et n'ont pu montrer aucun intérêt diagnostique différentiel supplémentaire à la cytologie seule (Silva et al., 2021).

Cependant, cet avantage que semble avoir la cytologie sur l'histologie dans le diagnostic des TVTC pourrait être compromis par la technique de prélèvement (Apposition, écouvillon, brosse) si elle se limite aux cellules exfoliées à la surface de la lésion. En réalité, l'apposition

proprement dite se réalise par application d'une tranche fraîchement obtenue d'un fragment de tumeur contre la lame porte-objet. Dans la présente étude, afin que le geste soit non invasif, simple et pratique, l'apposition a été faite en appliquant la lame porte-objet contre la surface de la lésion. Si la tumeur est faiblement ou pas exfoliée à cause d'une fibrose cicatricielle de surface par exemple, le prélèvement ne sera pas représentatif de la lésion. Ceci représente un biais dans notre étude qui pourrait éventuellement expliquer la faible cellularité artefactuelle constatée sur certaines lames d'empreinte réalisées en phase de progression tumorale. Il existe une bonne alternative à l'apposition, il s'agit de l'aspiration à l'aiguille fine (FNA : pour Fine Needle Aspiration) qui est capable de prélever du matériel cytologique profondément dans la tumeur (Lapa et al., 2012). Ainsi, il serait intéressant à l'avenir de comparer entre ces différentes techniques de prélèvement dans le diagnostic et le suivi des TVTC.

Dans le cadre de cette étude, les auteurs ont conçu une fiche d'interprétation et de diagnostic cytologique des TVTC (voir Annexe-B), sur la base des données rapportées par plusieurs auteurs (Duncan et Prasse, 1979 ; HILL, et al., 1984 ; Gonzalez et al., 2000 ; Mukaratirwa et al., 2006 ; Santos do Amaral et al., 2007 ; Gaspar et al., 2010). A notre connaissance, ces données cytologiques n'ont jamais été regroupées et organisées sous forme d'un protocole exploitable qui soit disponible dans la littérature. Ce modèle de fiche, associé aux différents algorithmes différentiel servant comme clés de diagnose, pourrait servir d'une ébauche pour un protocole d'interprétation cytologique des TVTC et des TCR. Il pourrait également être exploités par les étudiants dans leur apprentissage de la cytologie et par les vétérinaires praticiens ayant opté pour la cytologie comme technique de terrain dans le diagnostic des TCR.

De plus, la première partie de cette fiche d'interprétation contient un questionnaire concernant la clinique, la morphologie macroscopique et la localisation de la TVTC (voir Annexe-B) qui sera renseigné par le vétérinaire traitant et par le pathologiste en ce qui concerne la description détaillée de la lésion. Cette partie de la fiche est destinée à recueillir le maximum de données sur les TVTC en Algérie afin de les exploiter ultérieurement dans le cadre d'éventuelles futures enquêtes épidémiologiques.

Dans ce présent travail, la coloration commerciale rapide Diff-Quick® (D-Q) a été utilisée lors des préparations cytologiques et parfois comparée au MG-G classique. Les résultats

suggèrent que le D-Q permet d'obtenir une bonne qualité de coloration compatible avec un diagnostic cytologique. Le D-Q pourrait alors être une bonne alternative au MG-G, ce qui offre l'avantage de simplicité et de rapidité (moins d'une minute pour le D-Q contre une moyenne de 25min pour le MG-G). Il est donc mieux adapté aux conditions de terrain et de clientèle pour les vétérinaires praticiens qui veulent s'impliquer dans le diagnostic cytologique des TVTC.

Les résultats des trois cas étudiés (RETA, RISA et NICKY) suggèrent que la détermination de la phase d'évolution tumorale a une valeur pronostique utile et permet également d'évaluer l'efficacité du traitement qui s'exprime par inversion de la balance Progression/Régression dans l'évolution tumorale. Il a été constaté que les trois TVTC étudiées étaient en stade de progression avant traitement, et qu'après traitement, la phase s'est inversée en faveur d'une régression pour 2/3 des cas étudiés. Ce constat est en parfaite concordance avec les données rapportées dans la littérature (Hill et al., 1984 ; Gonzalez et al., 2000 ; Mukaratirwa et al., 2006).

Dans le cas du chien Nicky (cas n° 03), la durée prolongée du traitement (6 séances) et la persistance de la lésion (malgré une régression partielle) sont en faveur d'un caractère agressif et résistant de cette tumeur. Ceci pourrait s'expliquer par la forme plasmocytaire de cette tumeur et également par l'ancienneté de la lésion qui évolue depuis près de 2ans.

En effet, Ce caractère agressif et résistant de la forme plasmocytaire est déjà rapporté par plusieurs auteurs qui l'ont associé à une surexpression de la P-glycoprotéine agissant comme une pompe d'efflux transmembranaire capable de chasser la vincristine de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule tumorale et de faire chuter sa concentration intracellulaire (Thomas et Colley, 2003 ; Cristiane et al., 2015 ; Rein Filho et al., 2020). Cependant, d'autres auteurs ont rapporté l'absence de corrélation entre la classe cytomorphologique et la réponse à la chimiothérapie (Setthawongsin et al., 2018).

Il a été rapporté également que la chimiothérapie à la vincristine donne les résultats les plus prometteurs avec un taux de rémission de 100% pour les tumeurs traitées au stade précoce de leur progression (Moins d'une année d'évolution). Par contre, les tumeurs plus anciennes, requièrent généralement une thérapie prolongée avec des taux de rémission plus faibles (Conguly et al., 2013 ; Abeka, 2019). La tumeur du chien Nicky datait déjà de 2 ans avant le début du traitement.

Par ailleurs, l'utilisation extensive de la vincristine aurait conduit à l'émergence d'une résistance des TVTC à cette molécule (Gaspar et al., 2010). En effet, 79,40% des vétérinaires praticiens au Centre et à l'Est d'Algérie traitent la TVTC à la vincristine seule et 18,9% combine ce traitement avec l'excision chirurgicale (Benia, 2020). Dans le monde, 82,2% des vétérinaires utilisent la vincristine comme option thérapeutique selon l'enquête menée par Strakova et Murchison (2014).

L'utilisation extensive de la vincristine et l'ancienneté d'évolution de la lésion, semblent être des facteurs qui se complètent et concordent avec la première explication avancée plus haut, relative à la surexpression de la P-glycoprotéine par les cellules tumorales. Il s'agit là du mécanisme le plus largement admis pour expliquer la résistance polychimiothérapeutique (MDR pour Multidrug resistance) non seulement à la vincristine, mais à beaucoup d'autres antimitotiques. Beaucoup de molécules ont été utilisées avec succès en cas de résistance à la vincristine, à savoir la doxorubicine (Nak et al., 2005) et plus récemment la L-Asparginase (Setthawongsin et al., 2019) et la lomustine (Decuardo et al., 2021). Par contre, s'il s'agit d'une MDR, le changement de l'antimitotique ne semble pas pouvoir résoudre le problème. La seule option serait d'associer à la chimiothérapie (vincristine ou autres) un membre de la famille des inhibiteurs de la P-glycoprotéine. Ceci explique l'efficacité de la chimiothérapie rapportée par certains auteurs en associant la vincristine à la cyclosporine A et à l'ivermectine (Lapa et al., 2012), car ces molécules agissent comme des substrats à la P-glycoprotéine qui rentrent en compétition avec la vincristine pour empêcher ou du moins retarder son transport vers l'extérieur de la cellule tumorale. Les inhibiteurs de la P-glycoprotéine de troisième génération semblent être beaucoup plus efficaces, car ils agissent par un mécanisme non compétitif en inactivant directement cette pompe d'efflux transmembranaire (Thomas et Coley, 2003).

La plupart de lames d'empreinte du chien Nicky (Voir figure 32 : A'-F') contiennent des granulocytes en abondance ce qui s'expliquerait par une réaction inflammatoire provoquée et entretenue par les lésions inflammatoires d'automutilation présentes sur la tumeur. Ce comportement a été confirmé par la propriétaire du chien lors de l'anamnèse. Il a été rapporté dans la littérature qu'une réaction inflammatoire pouvait être en faveur d'une amélioration de la lésion (Abeka, 2019), ce qui ne semble pas être le cas pour le chien Nicky.

Dans ce présent travail, les auteurs ont constaté (Les cas de la chienne LAIKA, voir figure 33 – Annexe-A) qu'une rémission tumorale peut être obtenue et de façon remarquable même si l'animal n'a bénéficié que d'une modeste chimiothérapie. Il s'agit d'une chienne qui n'a pu bénéficier que d'une seule séance de chimiothérapie. Ce constat, concorde avec les résultats rapportés par Gonzalez et ses collaborateurs (2000), et pourrait s'expliquer par la forme lymphocytaire de cette TVTC qui contrairement à la forme plasmocytaire, est moins agressive et moins réfractaire à la chimiothérapie (Thomas et Colley, 2003 ; Cristiane et al., 2015 ; Rein Filho et al., 2020).

Ce résultat pourrait s'expliquer également par le fait que cette dose unique de traitement, aidée par l'immunocompétence de la chienne, a pu booster son système immunitaire lui permettant de reprendre le dessus sur la progression du processus tumoral (Gonzalez et al., 2000). Le mécanisme explicatif serait que la VCR, en diminuant la population des CT (par induction de leur apoptose), a pu réduire en dessous d'un certain seuil critique, le taux du TGF- β 1 d'origine tumorale. Cette cytokine (TGF- β 1), secrétée pendant la phase de progression, inhibe la cytotoxicité des L-T et des NK et permet aux CT d'échapper au système immunitaire par défaut d'expression du CMH I et II à leur surface (Liu et al., 2008 ; Santos et al., 2008 ; Abeka, 2019). Ainsi, la réduction en dessous d'un certain seuil, du taux de TGF- β 1 permettrait aux lymphocytes de retrouver leur cytotoxicité et produire les cytokines (INF- γ et IL-6) qui inhibent le TGF- β 1 et induisent l'expression des CMH I et II à la surface des CT. Ces dernières seront alors reconnues et rejetées par le système immunitaire (Murchison, 2008).

Ce mécanisme est le même dans la régression spontanée de la TVTC qui se prolonge dans le temps et reste tributaire de l'immunocompétence de l'hôte. L'action d'une chimiothérapie même modeste serait donc d'inverser la balance progression/régression (par expression du CMH I et II) et laisser le système immunitaire jouer son rôle comme s'il s'agissait d'une régression spontanée (Murchison, 2008).

Par similitude au modèle de la régression spontanée et sa dépendance de l'immunocompétence de l'animal, on peut supposer que l'efficacité d'une modeste chimiothérapie est tributaire aussi de la compétence immunitaire de l'animal. Ceci signifie que les sujets les plus immunocompétents, peuvent répondre favorablement à une modeste chimiothérapie et inversement. Cette hypothèse va dans le sens des connaissances établies

dans la pathogénie et les caractéristiques immunitaires de la TVTC (Liao et al., 2003 ; Liao et al., 2008 ; Murchison, 2008 ; Hsiao et al., 2008 ; Crozet, 2018 ; Abeka, 2019). D'autres explorations plus poussées restent nécessaires pour vérifier cette hypothèse.

Dans le cas des deux autres chiennes « RETA et ROSA » (cas n° 01 et 02), les auteurs n'ont pas constaté une régression tumorale et une rémission clinique et cytologique importante après la première séance de chimiothérapie (première semaine post traitement), bien que leurs TVTC étaient de forme lymphocytaire comme la chienne Laika. Ce n'est qu'au bout de la 2^{ème} ou la 3^{ème} semaine de traitement que la tumeur a manifestement régressé (Voir figures 24 et 28). Ce constat s'expliquerait éventuellement par une différence d'immunocompétence des chiennes comparées et également par une différence d'ancienneté de la tumeur qui est un facteur d'influence sur la réponse au traitement (Conguly et al., 2013 ; Abeka, 2019).

Ce constat pourrait aussi s'expliquer par l'inadaptation du protocole hebdomadaire de la chimiothérapie appliquée aux chiennes RETA et ROSA. Ce protocole hebdomadaire, n'a peut-être pas laissé le temps aux auteurs d'évaluer la réponse de la TVTC à la première dose, notamment que la durée minimale rapportée pour la régression spontanée de la tumeur est de 2 semaines « 2-12sem » (Abeka, 2019). Il existe dans la littérature, des protocoles avec un intervalle de 2 à 3 semaines de repos entre les séances de chimiothérapie à la VCR, qui seraient probablement mieux adaptés au traitement des TVTC de forme lymphocytaire chez des sujets parfaitement immunocompétents. L'hypothèse qui s'en dégage est que le protocole de chimiothérapie ne devrait pas être le même pour les TVTC plasmocytaires et lymphocytaires ni pour les sujets à différents niveaux d'immunocompétence. Dans le même ordre d'idées, peut-être d'une dose de chimiothérapie à la VCR serait suffisante pour le traitement des TVTC lymphocytaires chez des sujets immunocompétents. Ceci permettrait de diminuer la toxicité et les effets secondaires de cette substance antimitotique et de réduire les frais du traitement. Enfin, d'autres études et explorations sont nécessaires pour évaluer ces hypothèses.

Concernant la protection contre le risque d'exposition cytotoxique, les auteurs ont pris les mesures de protection individuelle consistant tout simplement à porter une blouse, des doubles gants en latex, un masque et des lunettes (ou une visière). A cela s'ajoute la séparation des déchets dans un container réservé aux produits cytotoxiques, en vue de les

incinérer. Ces mesures correspondent au niveau 1 de l'indice de contact cytotoxique (ICC) lors de préparation et d'administration d'antimitotiques de façon occasionnelle, selon les recommandations de l'OMS (Bouaziz et al., 2017). Les vétérinaires praticiens rentrent probablement dans cette catégorie, la protection contre le risque cytotoxique est donc indispensable notamment que 98,3% des vétérinaires au centre et à l'est d'Algérie, manipulent la vincristine pour traiter les TVTC (Benia, 2020).

Enfin, sur la base de tout ce qui précède, l'intérêt de la cytologie semble évident dans la prise en charge diagnostique et dans le suivi thérapeutique des TVTC. Cette technique est non invasive, simple, rapide, peu coûteuse et tout à fait adaptée aux conditions de terrain et de clientèle. Elle est à recommander aux vétérinaires praticiens Algériens, dont malheureusement, 98,1% se limitent à la clinique devant une suspicion de TVTC et 98,3% (79,40% + 18.9%) traitent à la vincristine ou combinent traitement et excision chirurgicale sans confirmation du diagnostic (Benia, 2020).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A l'issue de ce travail, il est conclu ce qui suit :

- La cytologie se présente comme une bonne option diagnostique des TVTC permettant aisément de les différencier des autres tumeurs à cellules rondes histologiquement similaires, à savoir le lymphome, le mastocytome, l'histiocytome et le sarcome histiocytaire.
- La cytologie est un bon moyen d'identification du stade d'évolution de la tumeur (Progression/régression) en fonction de l'infiltration lymphocytaire des cellules tumorales. Ceci représente un intérêt dans la prise en charge pronostique des cas de TVTC.
- La cytologie est un bon moyen de classification cytomorphologique des TVTC en trois formes à savoir la forme plasmocytaire qui est la plus agressive et résistante au traitement, la forme lymphocytaire et la forme mixte. Ceci représente un intérêt dans la prévision du caractère agressif et résistant des TVTC plasmocytaires.
- Le suivi cytologique pendant la chimiothérapie de la TVTC est un bon moyen d'évaluation de la rémission de la tumeur et de l'efficacité du traitement. Il peut également servir d'un moyen décisionnel pour l'arrêt ou la prolongation du traitement en fonction de l'absence ou la persistance des cellules tumorales, ce qui est plus objectif que la rémission clinique.
- La cytologie est non invasive, simple, rapide et peu coûteuse. Elle peut être appliquée comme une technique de terrain par les vétérinaires praticiens dans la prise en charge des cas de TVTC.

En perspective, il serait intéressant à l'avenir de :

- Conduire cette étude sur un nombre plus important de cas et d'appliquer des analyses statistiquement les résultats.
- Comparer entre la cytologie exfoliative (par empreinte ou écouvillonnage) et la cytologie par aspiration à l'aiguille fine (FNA) dans le diagnostic des TVTC.
- Evaluer d'autres alternatives thérapeutiques pour une meilleure prise en charge des cas de résistance à la vincristine ou de résistance polychimiothérapeutique.

RECOMMENDATIONS

RECOMMANDATIONS

A l'issue de ce travail, il est fortement recommandé aux vétérinaires praticiens recevant des cas de TVTC ce qui suit :

- Appliquer la cytologie comme une technique de terrain simple, rapide et peu coûteuse ; en l'associant systématiquement à la clinique dans la prise en charge diagnostique des cas de TVTC.
- Appliquer la cytologie comme un moyen de suivi dans la prise en charge thérapeutique des cas de TVTC.
- Appliquer la cytologie comme un moyen d'identification du stade d'évolution tumorale dans la prise en charge pronostique des cas de TVTC.
- Appliquer la cytologie comme un moyen de classification cytomorphologique dans l'évaluation de la résistance à la chimiothérapie des TVTC plasmocytaires.
- Enfin, exploiter « la fiche d'interprétation » proposée dans ce travail dans l'analyse cytologique des tumeurs à cellules rondes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abeka, Y. T., 2019. Review on Canine Transmissible Venereal Tumor (CTVT). *Cancer. Ther. Oncol. Int. J.*, 14(4): CTOIJ.MS.ID.555895.
- Albanese, F., 2006. Extra-genital transmissible venereal tumor associated with circulating neoplastic cells in an immunologically compromised dog. *Vet and Comp Oncol* 4(1): 57-62.
- Anton Antonov, 2015. Successful Treatment of Canine Transmissible Venereal Tumor Using Vincristine Sulfate. *Advances in Research*, 5(5): 1-5.
- Baez-Ortega, A., Gori, K., Strakova, A., Allen, J.L., Allum, K.M., Banske-Issa, L., Bhutia, T.N., Bisson, J.L., Briceño, C., Domracheva, A.C. et al., 2019. Somatic evolution and global expansion of an ancient transmissible cancer lineage. *Science* 365, eaau9923.
- Benia, Tumeur Vénérienne Transmissible Canine : Etude épidémiologique dans les wilayas du centre d'Algérie. 2020. Projet de fin d'Etudes – Institut des Science Vétérinaires – Université BLIDA-1.
- Bouaziz, N. T., Tourab, D., Nezzal, A. 2017. Manipulation des cytostatiques dans les services d'oncologie d'un Centre Hospitalo-Universitaire algérien. *Santé Publique*, 29, 2, 285-291.
- Boudia. Etude histopathologique d'un cas de tumeur vénérienne transmissible canine. 2020. Mémoire de Master, Faculté SNV - Université Mohamed El Bachir El Ibrahimy B.B.A.
- Bouziani. Enquête épidémiologique sur la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine dans le Centre et l'Est d'Algérie. 2019. Projet de fin d'Etudes – Institut des Science Vétérinaires – Université BLIDA-1.
- Cristiane, P.S., César, S.M., Giovana, W.S., Maria Isabel, M.M. 2015. Prevalence of different cytomorphological types of transmissible venereal tumours and the association with prognosis in dogs treated with vincristine sulphate – Retrospective study. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 36, n. 6, p. 3795-3800, nov./dez. 2015.
- Crozet. Les tumeurs naturellement transmissibles : Synthèse Bibliographique. 2018. Thèse de Docteur Vétérinaire – ENV Alfort.
- Dantzig AH, Tabas LB, Law KL et al. 2002. In vitro characterization of selective and highly potent tricyclic isoxazole inhibitors of the multidrug resistant protein MRP1. *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res.* 43, 951. Abstract.

- Das, U. et Das. A. 2000. Review of canine transmissible venereal sarcoma. *Vet Resear Comm* 24(8): 545-556.
- Decuadro, A., Ruiz, N., Menéndez, C., Bartesaghi, N., Amaral, C., Brandl, S. and Benech, A. 2021. Lomustine therapy for vincristine-resistant canine transmissible venereal tumor: a case report. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 43, e001320.
- Duncan et Prasse. 1979. Cytology of Canine Cutaneous Round Cell Tumors. *Vet. Pathol.* 16: 673-679.
- Gandotra, V., 2014. Transmissible venereal tumors in dogs. *Animal Husbandry Officers Workshop* pp. 5.
- Ganguly, B., Das U., Das, A.K. 2003. Canine transmissible venereal tumour: a review. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14, 1, 1–12.
- Gaspar, L.F.J., Ferreira, I., Moleta Colodel, M., Seullner Brandao, C.V., Rocha, N.S. 2010. Spontaneous canine transmissible venereal tumor: cell morphology and influence on P-glycoprotein expression. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 34(5): 447-454.
- Goldschmidt, M. H., M. J. Hendrick, 2003. Tumours of the skin and soft tissues. In: *Tumours in Domestic Animals*. (Meuton, D. J., Ed.), 4th ed., Iowa State Press, Iowa, pp. 45-118.
- Gonzalez, C.M., Griffey, S.M., Naydan, D.K., Flores, E., Cepeda, R., Cattaneo G. and Madewell, B. R. 2000. Canine Transmissible Venereal Tumour: a Morphological and Immunohistochemical Study of 11 Tumours in Growth Phase and during Regression after Chemotherapy. *J. Comp. Path.*, Vol. 122, 241–248.
- Hill, D.L., Yang, T.J., Wachtel, A. 1984. Canine transmissible venereal sarcoma: tumour cell and infiltrating leukocyte ultrastructure at different growth stages. *Vet. Pathol.* 21, 39-45.
- Hsiao Y, Liao K, Chung, T, Liu C, Hsu C et al., 2008. Interactions of host IL-6 and IFN-gamma and cancer derived TGF-beta1 on MHC molecule expression during tumor spontaneous regression. *Cancer Immunol Immunother.* 57: 1091-1104.
- Hsiao, Y., Liao, K., Hung, S., Chu, R. 2002. Effect of tumor infiltrating lymphocytes on the expression of MHC molecules in canine transmissible venereal tumor cells. *Vet Immun Immunol* 87(1): 19-27.

- Hsiao, Y., Liao, K., Hung, S., Chu, R. 2004. Tumor infiltrating lymphocyte secretion of IL-6 antagonizes tumor-derived TGF-beta 1 and restores the lymphokine-activated killing activity. *J Immunol* 172(3): 1508- 1514.
- Lapa, F.A.S., 1, Andrade, S.F., Gervazoni, E.R., Kaneko, V.M., Sanches, O.C., Gabriel Filho, L.R.A. 2012. Histopathological and cytological analysis of canine transmissible venereal tumor after 2 treatment protocols. *Colloquium Agrariae*, v. 8, n.1. 36-45.
- Liao K, Hung S, Hsiao Y, Bennett M, Chu R. 2003. Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule(s) specifically toxic for B cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 92, 149-162.
- Liu C, Wang Y, Lin C, Chuang T, Liao K et al., 2008. Transient down regulate on of monocyte-derived dendritic cell differentiation, function, and survival during tumor progression and regression in an in vivo canine model of transmissible venereal tumor. *Cancer Immunol Immunother* 57(4), 479-491.
- Madewell, R. 2001. Cellular proliferation in tumors: a review of methods, interpretation, and clinical applications. *J. Vet. Intern. Med.*, 15(4), 334- 40.
- Martins, M., De-Souza, M., Ferreira, F., Gobello, C. 2005. Canine transmissible venereal tumor: Etiology, pathology, diagnosis and treatment. *Recent Advances in Small Animal Reproduction*. Retrieved-05-25.
- Mayoral, G. Ciblage de la netrine-1 dans le mastocytome cutané canin. 2017, VETAGRO SUP, Campus Vétérinaire de Lyon. 160p.
- Mecheraoui et Alilouche. Enquête épidémiologique sur la Tumeur Vénérienne Transmissible Canine dans le Centre d'Algérie. 2018. Projet de fin d'Etudes – Institut des Science Vétérinaires – Université BLIDA-1.
- Moore, A.S. Leveille, C.R., Reimann, K.A., Shu, H. and Arias, I.M. 1995. The Expression of P-Glycoprotein in Canine Lymphoma and Its Association with Multidrug Resistance. *Cancer Investigation*, 13(5), 475-479.
- Mukaratirwa, S., Chiwome, T., Chitanga, S., Bhebhe, E. 2006. Canine transmissible venereal tumor: assessment of mast cell numbers as indicators of the growth phase. *Vet Resear Comm* 30: 613-621.

- Murad A Hiblu, M.A., Khabuli, N.M., Gaja, O.A. 2019. Canine transmissible venereal tumor: First report of three clinical cases from Tripoli, Libya. *Open Veterinary Journal*, Vol. 9(2): 103–105.
- Murchison, E. 2008. Clonally transmissible cancers in dogs and Tasmanian devils. *Oncogene* 27: 19-30.
- Murchison, E.P., Wedge, D.C., Alexandrov, L.B., Fu, B., Martincorena, I., Ning, Z., Tubio, J.M., Werner, E.I., Allen, J., De Nardi, A.B., Donelan, E.M., Marino, G., Fassati, A., Campbell, P.J., Yang, F., Burt, A., Weiss, R.A., Stratton, M.R. 2014. Transmissible dog cancer genome reveals the origin and history of an ancient cell lineage. *Science*, 343(6169):437–440.
- Murgia C, Pritchard K, Kim Y, Fassati A, Weiss A (2006) Clonal Origin and Evolution of a Transmissible Cancer. *Cell.*, 126(3), 477-487.
- Nak, D., Nak, Y., Cangul, I., Tuna, B. 2005. A clinic pathological study on the effect of vin- cristine on transmissible venereal tumor in the dogs. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.*, 52(7), 366-70.
- Park, M., Kim, Y., Kang, M., Oh, S., Cho, D. 2006. Disseminated trans-missible venereal tumor in a dog. *J. Vet. Diag. Invest.*, 18(1), 130-133.
- Pawaiya, R. V. S., Ramkumar, O., Paliwal, O. P., Pawde, A. M., Ravindran, R. 2006. Evaluation of cell proliferation markers in canine cutaneous histiocytoma and transmissible venereal tumour. *Indian J. Vet. Pathol.* 30, 49-52.
- Polle, F.M.C. Pronostic du mastocytome cutané canin et bilan d'extension : Etude rétrospective. 2008, Thèse de Docteur Vétérinaire, ENV-Toulouse, France. 109p.
- Punchkande, N., Dewangan, R., Sharda, R., Jolhe, D., Sahu, D., Sidar, S.K. and Yadav, D. 2021. Treatment of Canine Transmissible Venereal Tumour using Different Surgico- chemotherapeutic Protocols, *Indian Journal of Animal Research*.
- Rebbeck, C., Thomas, R., Breen, M., Leroi, A., Burt, A. 2009. Origins and evolution of a transmissible cancer. *Evolution* 63(9): 2340-2349.
- Rein Filho, N.P., Torres, A.A.A., Silva, M.P.C., Ventura, R.F.A., Basso, K.M., Ferreira, M.G.P.A., De Nardi, A.B., Floriano, B.P., Calderon, C. 2020. Transmissible Venereal Tumor: Cell

- Proliferation (AGNOR) and response to chemotherapy correlated with cytomorphological classification. *ARS VETERINARIA*, Jaboticabal, SP, v.36, n.2, 140-147.
- Rezaei, M., Azizi, Sh., Shahheidari-pour, Sh., Rostami, S. 2016. Primary oral and nasal transmissible venereal tumor in a mix-breed dog. *Asian Pac J Trop Biomed.*, 6(5), 443–445.
- Santos do Amaral, A., Bassani-Silva, S., Ferreira, I., Santos da Fonseca, L. Evangelista de Andrade, F.H., Gaspar, L.F.J., Rocha, N.S. 2007. Cytomorphological characterization of transmissible canine venereal Tumor. *RPCV.*, 102 (563-564), 253-260.
- Santos J, Barbosa M, Tenorio A, Coelho M, Rolim M et al. 2008. Transmissible venereal tumor disease in a dog with involvement of the skin. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 2, 39-43.
- Santos, F.G.A., Moro*, L., Cassali, G.D., Paixão, T.A., Campos, P.P., Silva, S.S., Vasconcelos, A.C. 2011. Cell proliferation markers in the transplanted canine transmissible venereal tumor. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.6, p.1345-1352.
- Scarpelli, K.C., Valladão, M.L., Metzke, K. 2010. Predictive factors for the regression of canine transmissible venereal tumor during vincristine therapy. *The Veterinary Journal*, 183, 362– 363.
- Setthawongsin, C., Tangkawattana, S., Rungsipipat, A. Techangamsuwan, S., 2018. Computerized Cytomorphometric and Cytomorphological Analysis of Canine Transmissible Venereal Tumours. *J. Comp. Path.*, Vol. 163, 18-22.
- Setthawongsin, C., Techangamsuwan, S., Tangkawattana, S., Rungsipipat, A. 2016. Cell-Based Polymerase Chain Reaction for Canine Transmissible Venereal Tumor (CTVT) Diagnosis. *The Journal of Veterinary Medical Science*.
- Setthawongsin, C., Teewasutrakul, P., Tangkawattana, S., Techangamsuwan, S., Rungsipipat, A. 2019. Conventional-Vincristine Sulfate vs. Modified Protocol of Vincristine Sulfate and L-Asparaginase in Canine Transmissible Venereal Tumor. *Frontiers in Veterinary Science*, Volume 6, Article 300.
- Shepard RL, Cao J, Starling JJ, et al. 2003. Modulation of P-glycoprotein but not MRP-1 or BCRP-mediated drug resistance by LY335979. *Int J Cancer*. 103, 121-125.

- Siddle et al. 2013. Reversible epigenetic down-regulation of MHC molecules by devil facial tumour disease illustrates immune escape by a contagious cancer. *PNAS*. March 26, vol. 110, no. 13: 5103–5108.
- Siddle et Kaufmann, 2014. Immunology of naturally transmissible tumours. *Immunology*, 144, 11–20.
- Silva, F.T.A., Silva, F.W.A. and Correa, D.O.E.H. 2021. Cytomorphological, Molecular Diagnosis and Evaluation of Insertion of the LINE-1 Element in the C-MYC Gene in Canine Transmissible Venereal Tumor: Applicability in Veterinary Clinical Routine. *Proceedings*, 76, 4.
- Somville. Etude bibliographique à propos du sarcome de Sticker chez le chien. 2021. Mémoire de Master. Faculté de Médecine Vétérinaire – Université de Liège.
- Strakova and Murchison, 2014. The changing global distribution and prevalence of canine transmissible venereal tumour. *BMC Veterinary Research*, 10, 168.
- Thangathurai, R., Balasubramaniam, G.A., Dharmaceelan, S., Balachandran, P., Srinivasan, P., Sivaseelan, S. and Manohar, B.M. 2008. Cytological diagnosis and its histological correlation in canine transmissible venereal tumour. *Veterinarski Arhiv* 78 (5), 369-376.
- Thomas et coley, 2003. Overcoming Multidrug Resistance in Cancer: An Update on the Clinical Strategy of Inhibiting P-Glycoprotein. *Cancer Control*, 10, 2, 159-165.
- Tura S, Morschhauser F, Zinzani P, et al. 2001. A phase I trial of the P-glycoprotein (Pgp) inhibitor zosuquidar (LY335979) and CHOP chemotherapy in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 98, 251b. Abstract.
- Veloso, J.F., Oliveira, T.N.A., Andrade, L.P., Silva, F.L., Rosa Sampaio, K.M.O., Machado Michel, A.F.R., Lima de Lavor, M.S. and Alberto Carlos, R.S. 2018. Three Cases of Exclusively Extragenital Canine Transmissible Venereal Tumor (cTVT). *Acta Scientiae Veterinariae*, 46(Suppl 1), 295.
- Volkman, Canine Transmissible Venereal Tumor: An examination of tumor cytology and haematology in 9 affected dogs living in Namibia. 2019. Master Thesis - University of Veterinary Medicine. Budapest, Hungary.

ANNEXES

ANNEXE-A : Cas de la chienne LAIKA exclue de l'étude.

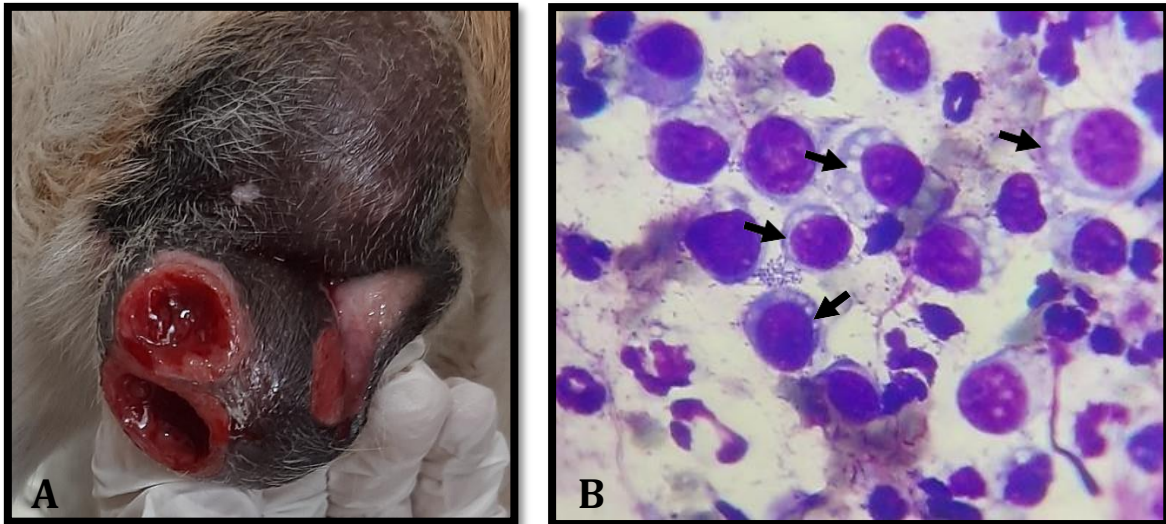


Figure 33 : Photographie de la lésion (A) et microphotographie de lame d'empreinte cytologique (B) de la chienne Layka atteinte d'une TVTC en localisation vulvaire (*Plusieurs nodules ulcérés*).

L'interprétation de la lame d'empreinte confirme une TVTC (*Vacuoles cytoplasmiques, flèches, figure B*) de forme lymphocytaire en phase de progression.

Cette chienne a bénéficié d'une seule séance de monochimiothérapie à la vincristine. Une échographie a été réalisée une semaine après, et a objectivé un état gestatif précoce, ce qui a conduit à l'interruption du traitement (*Effet tératogène de la vincristine*) et l'exclusion de la chienne de cette étude. Son propriétaire a confirmé la régression spectaculaire de sa tumeur bien qu'elle n'ait reçu qu'une modeste chimiothérapie. (Données photographiques et cytologiques non disponibles).

ANNEXE-B : Fiche d'interprétation cytologique



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC OF ALGERIA

Ministry of Higher Education
and Scientific Research

وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي

UNIVERSITY SAAD DAHLAB-BLIDA 1 جامعة سعد دحلب البليدة 1

Carnivore Reproductive
Biotechnologies Platform

الأرضية البيو تكنولوجية
لتكاثر الكليبات



Fiche d'interprétation cytopathologique (Tumeurs à cellules rondes « TCR »)

1- Renseignement de l'animal :

Nom : Puce/Tatouage : Age :
Sexe : Espèce : Race : P.V (Kg) :
Taille (cm) :cm Surface corporelle (m²):

Propriétaire :

Nom : Prénom : Adresse :
Tél : Email :

2- Médecin ayant référé le cas :

Dr : Tél/Fax : Email :

Suspicion clinique :

Traitement et soins précédents :

Locaux :

Généraux :

Traitement en cours :

Locaux : Non ; Oui Molécule : / Dose : / Fréquence :

Généraux : Non ; Oui Molécule : / Dose : / Fréquence :

3- Diagnostic différentiel d'un écoulement génital sanguinolent :

Écoulement génital sanguinolent : Oui Non

Stade du cycle : Pro-œstrus : Œstrus : Metœstrus : Anœstrus :

Cystite : Oui Non Dgc échographique : ECBU Autres :

Urétrite : Oui Non Dgc :

Tumeur vésicale/urétrale : Oui Non Dgc échographique : Autres :

Prostatite : Oui Non Echographie Cytologie du LP : Autres :

4-

Description des lésions : (Macroscopie)

Date de découverte : Date :/...../...../ Durée d'évolution approximative :

Localisation Génitale , ; Extra génitale .Si

localisation Génitale :

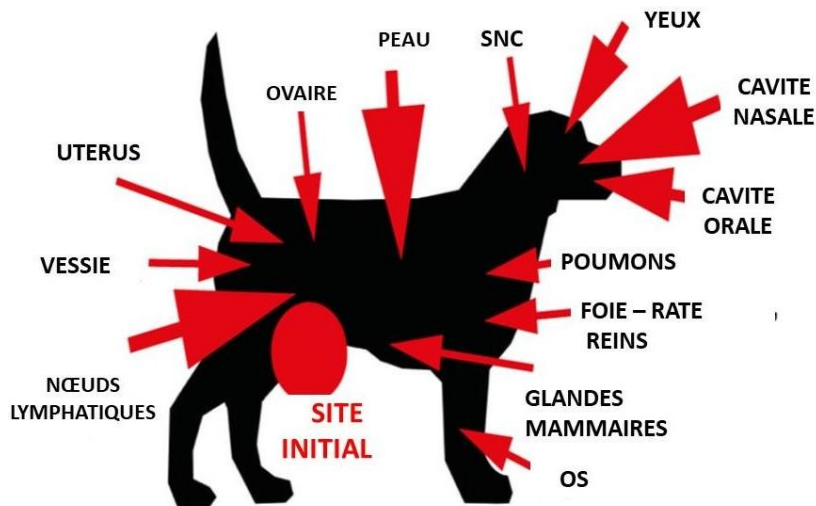
Mâle : Bulbes érectiles : ; Corps du pénis : ; Gland : ; Prepuce : , Autres :

Femelle : Vulve : ; Vestibule : ; Vagin postérieur : ; Autres :

Si localisation Extra-génitale :

Peau : ; Cavités nasales : ; Yeux : ; Autres :

Si des métastases existent : entourer le ou les nom(s) d'organes correspondants sur la figure ci-dessous.



Taille de la lésion :

Forme de la lésion : En Chou-fleur : ; Nodulaire : Si oui : Isolé : ; Multiple :

Pédiculaire : ; Sessile : ; Ulcérée : ; Non ulcérée : Infectée :

; Nécrotique : ; Hémorragique : ; Suintante : Tissu

cicatriciel : Oui ; Non ; Couleur rouge : ; Autres :

Description du pathologiste :

.....

.....

.....

.....

Cytologie

5- Prélèvement cytologique : _____

Apposition : _____ Sur lésion : _____ Fragment de tissu : _____ Ecouvillon : _____ FNA : _____

6- Coloration :

MGG : _____ ; Diff-Quick : _____ ; H-S : _____ ; PAPS : _____ ; Autres :

7- **Grossissement :** x400 : ; x1000 :

8- Interprétation cytopathologique (Microscopique) :

• **Cellules tumorales :** _____

Forme prédominante : Ronde, Nb : _____ % : _____ **Ovoïde, Nb :** **% :** Mixtes : _____

Taille : Petite : _____ ; Grande : ; Géante : ; Mononuclées : _____ ; Multinuclées :

• **Cytoplasme des cellules tumorales :**

Peu abondant : _____ Abondant : _____ Peu délimité : _____ Bien délimité : _____ Granuleux : _____

Finement granuleux : Non granuleux :

Vacuoles périphériques : Non ; Oui ; % des cellules vacuolées : _____

• **Noyaux des cellules tumorales :**

Forme prédominante : Ronds : _____ ; Ovoïdes : _____ ; Haricot : _____

Position du noyau : Excentrés : _____ ; Centrés : ; Mixte :

Chromatine granuleuse : Non : Oui :

Nucléoles : Nb : ; Taille : Grande : ; Petite : _____

Figures de mitose : Absente : _____ ; Présente : ; Abondante : Rapport

Noyau/Cytoplasme : Elevé : ; Faible : ; Très faible :

• **Autres cellules :**

Erythrocytes : Absents : _____ ; Présents : _____ ; Abondants : _____

Granulocytes : Absents : ; Présents : ; Abondants :

Mastocytes : Absents : ; Présents : ; Abondants :

Lymphocytes : Absents : ; Présents : ; Abondants :

Rapport Lymphocytes infiltrant / Cellules tumorales :

Conclusion

Diagnostic différentiel des TCR :

1. Mastocytome : 2. Histiocytome : 3. Sarcome histiocytaire :

4. Lymphome: 5. TVTC:

Classification cytomorphologique d'une TVTC :

5.1. Forme Lymphocytaire : 5.2. Forme Plasmocytaire : 5.3. Forme Mixte :

Stade d'évolution d'une TVTC:

1. Phase progressive : 2. Phase régressive :

Compte rendu du pathologiste

.....

.....

.....

.....

.....

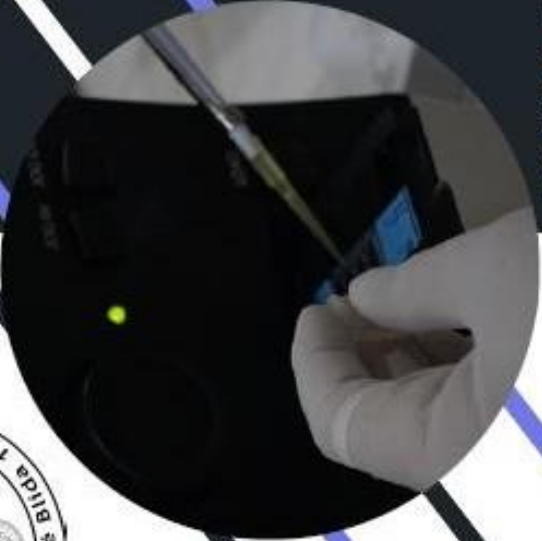
.....

.....

.....

.....

ANNEXE-C: Présentation de la Plateforme Biotechnologique en Reproduction.



B.P 270 Route de Soumâa –
Blida
Tél /Fax: 025.27.24.21
Mob: 0661.721.940
pbrc.univ.blida1@gmail.com



**Plateforme
Biotechnologique en
Reproduction des
Carnivores (P.B.R.C)**

Missions de la P.B.R.C.:

- Assister et conseiller sur le plan scientifique et technique les différents services de sécurité utilisateurs de la ressource canine en élevage et reproduction .
- Réaliser des programmes de recherche et de partenariat scientifique en médecine, chirurgie et reproduction des carnivores domestiques et sauvages.
- Participer à la formation universitaire graduée et post graduée, au perfectionnement et au recyclage en médecine, chirurgie et reproduction des carnivores domestiques et sauvages.
- Produire, cryo-conserver, stocker et transporter les semences animales.
- Assurer des prestations de service en médecine, chirurgie et reproduction des carnivores.
- Contribuer au développement de la médecine et la chirurgie expérimentales sur modèle animal en partenariat avec les CHU et les Centres de recherche médicale.
- Contribuer au développement et à la modernisation de l'élevage canin utilitaire en Algérie
- Contribuer à la préservation des races canines locales et des carnivores sauvages protégés en Algérie.

Organisation de la P.B.R.C.:

La plate-forme Biotechnologique en Reproduction des Carnivores est organisée en quatre (04) sections techniques à savoir :

- La section 1 : Médecine, Chirurgie et Reproduction des carnivores.
- La section 2 : Analyse, cryoconservation, stockage et transport des semences animales.
- La section 3 : Analyse microbiologique et Génomique.
- La section 4 : Animalerie.

Domaines de formations:

- Formation de recyclage et de mise à niveau des vétérinaires praticiens en médecine, imagerie, chirurgie, anesthésiologie et reproduction des carnivores
- Formation destinée aux enseignants chercheurs et chercheurs permanents en biotechnologie de la reproduction
- Formation destinée aux éleveurs canin et cynotechniciens dans les différents domaines de gestion d'élevage et le reproducteur

Partenaires:

- L'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.
- L'Université de Tiaret.
- L'Université de Constantine.
- Le CHU de Blida.
- Le CRAPC.
- Le CRBL.

