

Influence de la race sur la morphométrie des globules rouges chez les bovins

Adili, N.¹; Melizi, M.¹; Belabbas, H.² et Kebbab, T.³

¹Département des Sciences Vétérinaires. Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques. Université de Batna 1. Batna. Algérie.

²Département de Microbiologie et de Biochimie. Faculté des Sciences. Université de Mohamed BOUDIAF. M'Sila. Algérie.

³Direction des Services Agricoles. Batna. Algérie.

RÉSUMÉ

MOTS CLÉ SUPPLÉMENTAIRES

Brune de l'Atlas.
Croisement.
Prim'Holstein.
Montbéliarde.
Brune des Alpes.

Cette étude a été réalisée sur 165 bovins appartenant à la race autochtone petite Brune de l'Atlas, et aux races importées Prim'Holstein, Montbéliarde et Brune des Alpes, et leur croisement avec la race locale; elle a pour but principal de rechercher l'influence de la race sur les paramètres morphométriques des globules rouges. Les prélèvements sanguins ont été effectués à la veine jugulaire avec confection de frottis sanguins qui sont colorés en suivant la méthode de May-Grundwald Giemsa. Pour l'étude morphométrique, nous avons considéré le diamètre, la circonférence et la surface des érythrocytes; les mesures ont été faites tout en utilisant un logiciel spécial OPTIKA™ Vision Pro. L'étude statistique des résultats obtenus a été effectuée par ANOVA. Les données enregistrées permettent de constater que le diamètre des globules rouges est nettement plus élevé ($p < 0,01$) chez les mâles locaux ($5,00 \pm 0,22$) et de croisement ($4,98 \pm 0,12$); cependant, chez les femelles, le diamètre des érythrocytes est significativement plus grand ($p < 0,01$) chez les races autochtones ($5,23 \pm 0,10$) et Brune des Alpes ($5,32 \pm 0,19$). En outre, la circonférence des érythrocytes est plus grande ($p < 0,05$) chez les mâles de la race Prim'Holstein Pie-Noire ($19,09 \pm 1,14$) et Montbéliarde ($19,70 \pm 0,86$); alors que chez les femelles, la circonférence érythrocytaire est significativement plus élevée ($p < 0,01$) chez les vaches locales ($20,65 \pm 0,55$). De même, la surface des hématies prend des valeurs significativement plus élevées ($p < 0,01$) chez les mâles Holstein Pie-Noire ($21,18 \pm 2,28$) et Montbéliarde ($22,18 \pm 1,76$); en revanche, chez les femelles, la surface des hématies des bovins autochtones ($24,47 \pm 1,30$) est significativement la plus élevée ($p < 0,001$). Le présent travail nous a permis de proposer des nouvelles valeurs de référence pour la circonférence et la surface des érythrocytes dans les races et les conditions d'élevage étudiées.

Influence of the breed on the morphometry of red blood cells in cattle

SUMMARY

ADDITIONAL KEYWORDS

Brown of Atlas.
Crossbred.
Prim'Holstein.
Montbéliard.
Brown of the Alps.

This study was conducted in 165 cattle belonging to Brown of the Atlas native breed, and the imported Holstein, Montbéliard and Brown of the Alps breeds, and their crosses with the local breed; it aims at revealing the influence of the breed on the morphometric parameters of red blood cells. Blood samples were taken from the jugular vein; smears were confectioned on slides immediately after the blood collection and May-Gründwald Giemsa dye stained. For the morphometric study, we considered the diameter, the circumference and the surface of erythrocytes; measurements were achieved using special software OPTIKA™ Vision Pro. Statistical analysis of the data was performed using ANOVA. The recorded results showed that the diameter of the red blood cells is significantly higher ($p < 0.01$) in the local (5.00 ± 0.22) and cross (4.98 ± 0.12) males; however, in females, the diameter of erythrocytes was significantly higher ($p < 0.01$) in indigenous (5.23 ± 0.10) and Brown of the Alps (5.32 ± 0.19) breeds. In addition, the circumference of erythrocytes is larger ($p < 0.05$) in males of Pie-Black Holstein (19.09 ± 1.14) and Montbéliard (19.70 ± 0.86) breeds; whereas in females, the erythrocyte circumference was significantly higher ($p < 0.01$) in local cows (20.65 ± 0.55). Similarly, the surface of red blood cells takes significantly higher values ($p < 0.01$) in Pie-Black Holstein (21.18 ± 2.28) and Montbéliard (22.18 ± 1.76) males; however, in females, the surface of the red blood cells of native cattle (24.47 ± 1.30) was significantly higher ($p < 0.001$). The current work allowed us to propose new reference values for the circumference and the surface of erythrocyte in the breeds and the management conditions considered.

INFORMATION

Cronología del artículo.
Recibido/Received: 19.01.2016
Aceptado/Accepted: 28.04.2016
On-line: 15.10.2016
Correspondencia a los autores/Contact e-mail:
nezar.adili@yahoo.fr

INTRODUCTION

Comme chez tous mammifères, les globules rouges des bovins sont des cellules hautement différenciées et spécialisées, ils sont arrondis, biconcaves avec une pâleur centrale, de couleur rouge et dépourvues de noyaux et d'organites cellulaires (Bacha et Bacha, 2000). Un érythrocyte de bovin mesure entre 5 et 6 µm de diamètre; le cas de l'espèce bovine est unique, parce qu'une anisocytose peut être observée de façon physiologique et à faible degré lors de la lecture d'un frottis sanguin, avec absence physiologique des formations de rouleaux (Kramer, 2000; Wood et Quiroz-Rocha, 2010). Chez les bovins le nombre total de globules rouges varie entre $5 \times 10^6 / \mu\text{L}$ et $10 \times 10^6 / \mu\text{L}$ (Duncan et Prasse, 1986; Buszinski, 2004; Wood et Quiroz-Rocha, 2010).

Chez les bovins, des variations concernant la numération érythrocytaire, l'hématocrite, le volume globulaire moyen et le taux d'hémoglobine, peuvent dépendre de nombreux facteurs, les principales sont dues à l'âge (George *et al.*, 2008), le sexe (Sripad *et al.*, 2014), la race (Kramer, 2000), l'altitude (Wood et Quiroz-Rocha, 2010), la gestation (Roy *et al.*, 2010), la lactation (Kumar et Pachauri, 2000; George *et al.*, 2008) et la saison (Lateef *et al.*, 2014). En effet, la connaissance des valeurs usuelles des paramètres érythrocytaires, ainsi que leurs variations physiologiques sont très importantes pour l'interprétation des cas pathologiques chez les bovins surtout lors de syndromes anémiques. Ainsi, selon les recommandations de Šimpraga *et al.* (2013), il est nécessaire et d'une grande utilité d'établir pour les paramètres érythrocytaires des valeurs de références spécifiques et propres pour chaque pays ou chaque région et au sein d'un même pays des intervalles de références en fonction des différentes races et la saison.

En revanche, il existe peu de travaux sur l'influence des facteurs déjà cités sur la morphométrie des érythrocytes. Cependant, les études morphométriques des globules rouges sont basées essentiellement sur des mesures linéaires de la taille des hématies. La mesure du diamètre des globules rouges passe par l'utilisation combinée d'un micromètre oculaire et un micromètre objectif (lame micrométrique). Le diamètre des hématies est mesuré sous un microscope optique au grossissement $\times 100$ à immersion (Adams, 1954; Todd, 1979). Outre l'utilisation fastidieuse et monotone du micromètre oculaire, d'autres difficultés de mesure de structures non linéaires voient disparaître l'utilisation de cet instrument au profit de microscopes ultra-performants et de haute qualité. Cette étude a été réalisée chez les bovins de différentes races: locale, importées et de croisement, elle a pour objectif principal d'étudier l'influence de la race sur trois paramètres morphométriques des globules rouges, à savoir : le diamètre, la circonférence et la surface.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

RÉGION DE L'ÉTUDE ET LES ANIMAUX

la présente investigation a été réalisée dans la région de Batna, qui se trouve dans la partie orientale de l'Algérie, à 410 km de la capitale Alger et à environ 1000 m d'altitude. L'étude à concerner les bovins qui

cliniquement apparaissent sains et en bon état de santé, et appartenant aux races suivantes :

Race locale autochtone la petite Brune de l'Atlas.

Races importées : les deux Prim'Holstein Pie-Noire et Pie-Rouge, la Montbéliarde et la race Brune des Alpes.

Croisement surtout à partir de bovins locaux et de bovins importés.

Pour chaque race nous avons pris 30 sujets, divisés suivant leur sexe en deux lots réparti comme suit : 15 mâles adultes et 15 femelles adultes non gestantes. À l'exception de la race bovine importée Brune des Alpes, où les prélèvements n'ont été réalisés que chez 15 femelles adultes non gestantes.

PRÉLÈVEMENTS DE SANG ET CONFECTION DE FROTTIS SANGUINS

Tous les prélèvements sanguins ont été effectués par ponction de la veine jugulaire, en suivant toujours la technique décrite par Médaille *et al.* (2005). Par la suite, la confection des frottis sanguins sur lame a été réalisée selon la méthode de Mills (1998). Les frottis sanguins doivent être réalisés directement après la prise du sang sans utilisation des anticoagulants, car ces derniers peuvent modifier la morphologie des cellules sanguines, voire réduire la taille des érythrocytes (Canfield, 1998). Il est primordial d'utiliser des boîtes de rangement pour le classement, la protection et l'envoi des frottis au laboratoire dans de bonnes et meilleures conditions. Les frottis sanguins sont identifiés avec précision (numéro d'ordre, race et sexe), sur la partie matée de la lame au crayon marqueur permanent.

COLORATION DES FROTTIS

La coloration des frottis sanguins a été réalisée en utilisant la coloration classique mixte de Romanowsky, spécialement par le colorant de May-Gründwald Giemsa (M.G.G); c'est la meilleure coloration et de loin la plus appropriée pour marquer les hématies des mammifères. La coloration des frottis a été faite en respectant toujours le protocole cité par Houwen (2000).

ÉTUDE MORPHOMÉTRIQUE DES GLOBULES ROUGES

Dans notre étude nous avons utilisé un microscope optique binoculaire OPTIKA™ B-350 (Ver.4.0.0) muni d'un appareil photo numérique de haute résolution OPTIKAM™ (Ver.4.1.0) permettant l'affichage de l'image microscopique du frottis placé dans le microscope sur un micro-ordinateur en temps réel. L'étude des paramètres morphométriques des globules rouges a été effectuée avec le logiciel spécifique OPTIKA™ Vision Pro. Les opérations de mesure de ce logiciel sont la version numérique des techniques de morphométrie plus traditionnelles avec des microscopes optiques. Nous avons d'abord procédé à la numérisation des images microscopiques des globules rouges pour tous les sujets des différentes races. Au préalable nous avons numérisé l'échelle gravée sur la lame micrométrique à l'objectif à immersion ($\times 100$).

Nous avons mesuré le diamètre des hématies, et nous avons développé deux nouveaux paramètres, qui sont la circonférence et la surface apparente des érythrocytes. L'étude morphométrique des globules

rouges a été réalisée en respectant les instructions du fabricant du logiciel. Pour chaque sujet étudié dans toutes les races, nous avons mesuré le diamètre, la circonférence et la surface de 50 globules rouges, puis calculé la moyenne de ces 50 mesures.

ÉTUDE STATISTIQUE ET ANALYSE DES RÉSULTATS

Les résultats de l'étude morphométriques ont été traités à l'aide d'une ANOVA du logiciel SPSS (2008). Nous avons présenté pour chaque paramètre les moyennes et les écarts-types (déviations standards) permettant de calculer les intervalles de confiances. Les différences étaient considérées comme significatives à $p < 0,05$; à $p < 0,01$ et à $p < 0,001$.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats relatifs à l'influence de la race sur le diamètre des globules rouges sont répertoriés dans le **tableau I**. Chez les mâles, les globules rouges sont nettement plus gros ($p < 0,01$) chez les bovins locaux et de croisement que chez les races importées. Cependant, chez les femelles adultes, le diamètre des érythrocytes est significativement plus grand ($p < 0,01$) chez les groupes autochtone et Brune des Alpes que chez les groupes. Il est à noter, que les hématies des femelles sont significativement plus grosses ($p < 0,01$) que celles des mâles chez les races locale, Holstein Noire et Holstein Rouge. Pour le diamètre des érythrocytes chez les différentes races, il ressort clairement que les valeurs obtenues sont du même ordre de grandeur que les valeurs de références citées dans les travaux de Kramer (2000) et Wood et Quiroz-Rocha (2010).

les vaches locales ($p < 0,01$) que chez les autres vaches. Comme pour le diamètre, la circonférence des globules rouges est significativement plus grande chez les femelles que les mâles chez les bovins locaux ($p < 0,01$) et les Prim'Holstein Pie-Noire ($p < 0,05$) et Pie-Rouge ($p < 0,05$).

Dans le **tableau III** sont reportées les valeurs relatives à l'influence de la race sur la surface des érythrocytes. Généralement, les valeurs les plus faibles de la surface érythrocytaire sont celles observées chez les bovins issus de croisement et les bovins importés Holstein Pie-Rouge. Chez les mâles, la surface des hématies prend des valeurs significativement plus élevées ($p < 0,01$) chez les deux races Holstein Pie-Noire et montbéliarde comparativement aux autres races. En revanche, chez les femelles, la surface des hématies des bovins de la race autochtone est significativement la plus élevée ($p < 0,001$). Les données observées montrent toujours, que les hématies des femelles restent significativement plus grandes que celles des mâles chez les bovins locaux ($p < 0,001$), Prim'Holstein Pie-Noire ($p < 0,01$) et Pie-Rouge ($p < 0,01$).

Au regard des résultats acquis dans cette étude, il ressort que la race des bovins influe sur les trois paramètres morphométriques des globules rouges, qui sont le diamètre, la circonférence et la surface. En effet, des études sur l'influence de la race sur les paramètres érythrocytaires (érythrogramme) chez les bovins ont montré que la numération érythrocytaire, l'hématocrite et le taux d'hémoglobine, sont moins élevés chez les races laitières que les races allaitantes ; donc, les vaches laitières hautes productrices sont plus susceptibles de développer des anémies (Penney et Scofield, 1966; Kramer, 2000). De même, selon Ryan (1971), la race Charo-

Tableau I. Influence de la race sur le diamètre (exprimés en μm) des globules rouges chez les bovins (Influence of the breed on the diameter (expressed in μm) of red blood cells in cattle).

Groupes	RL	RC	RPHPN	RPHPR	RM	RBA
Globale (n=30)	5,12±0,20 ^a	5,02±0,14 ^a	4,82±0,21 ^b	4,71±0,26 ^b	4,81±0,18 ^b	//
Mâles adultes (n=15)	5,00±0,22 ^a	4,98±0,12 ^a	4,68±0,16 ^b	4,61±0,16 ^b	4,82±0,16 ^c	//
Femelles adultes (n=15)	5,23±0,10 ^{a**}	5,05±0,16 ^b	4,96±0,16 ^{b**}	4,82±0,30 ^{c**}	4,79±0,21 ^c	5,32±0,19 ^a

RL= Race Locale; RC= Race de Croisement; RPHPN= Race Prim'Holstein Pie-Noire; RPHPR= Race Prim'Holstein Pie-Rouge; RM= Race Montbéliarde; RBA= Race Brune des Alpes ^{a,b,c} dans une même ligne, lorsque les lettres sont différentes, les différences sont significatives à ($p < 0,01$). **indique une différence significative entre les mâles adultes et les femelles adultes à ($p < 0,01$).

Les données exprimées dans le **tableau II** montrent l'influence de la race sur la circonférence des globules rouges. Globalement, on peut remarquer, que les valeurs de la circonférence sont toujours plus petites chez les bovins issus de croisement que chez les autres races. Chez les mâles adultes, une différence significative a été constaté ($p < 0,05$), où les cellules rouges sont plus grandes chez les deux races importées Prim'Holstein Pie-Noire et montbéliarde par rapport aux bovins locaux, de croisement et Prim'Holstein Pie-Rouge. Chez les femelles adultes, la circonférence des érythrocytes est significativement plus élevée chez

laise a un nombre de globules rouges, un hématocrite et un taux d'hémoglobine significativement plus élevés que les autres races ; et la race Jersey représente celle pour laquelle ces valeurs sont les plus petites.

En outre, les valeurs de la numération des globules rouges, du taux d'hématocrite, taux d'hémoglobine et le volume globulaire moyen sont plus élevé chez les jeunes que chez les adultes (Adams *et al.*, 1992; George *et al.*, 2008). Aussi, chez les mâles, les valeurs érythrocytaires sont supérieures de 5-10% en moyenne à celles des femelles (Jain, 1986; Sripad *et al.*, 2014). D'autre part, les bovins élevés à haute altitude ont un nombre

de globules rouges, un taux d'hématocrite, une concentration en hémoglobine et un volume globulaire moyen supérieur à ceux d'animaux comparables vivant à une altitude plus basse (Coles, 1979; Kramer, 2000; Wood et Quiroz-Rocha, 2010). Il faut également signaler, qu'au cours de la gestation, les paramètres de l'hémogramme rouge diminuent progressivement, surtout entre le 4^{ème} et le 7^{ème} mois et retrouvent les valeurs usuelles 2 à 3 mois après la mise-bas (Roy *et al.*, 2010). Ainsi, les femelles en lactation ont en moyenne des valeurs érythrocytaires plus faibles que les femelles tarées ou hors lactation (Kumar et Pachauri, 2000; Kramer, 2000; George *et al.*, 2008). Un autre facteur à considérer est la saison, où la numération des globules rouges, l'hématocrite et le taux d'hémoglobine sont plus faibles pendant l'Hiver, les valeurs de ces paramètres augmentaient au cours de l'Été (Rowlands *et al.*, 1979; Lateef *et al.*, 2014).

Chez les autres espèces, plusieurs auteurs ont montré dans leurs travaux qu'il y'a une influence de la race sur la taille des globules rouges. Néanmoins, Chez les chevaux, les hématies des races de sang (Pur-Sang Arabe et Anglais) sont plus petites que celles chez les races communes (Grondin et Dewitt, 2010; Taylor *et al.*, 2010). Chez les chiens, certains caniches présentent une macrocytose constitutionnelle; à l'inverse, certaines races japonaises (Akita et Sheba) possèdent naturellement des hématies de petite taille (Meinkoth et Clinkenbeard, 2000; Rizzi *et al.*, 2010). Par ailleurs, d'après Tornquist (2010) chez les camélidés, les érythrocytes du chameau

(*Camelus bactrianus*) sont plus petits que ceux du dromadaire (*Camelus dromedarius*).

Dans l'ensemble, les variations dans la morphométrie des globules rouges, observées entre les différentes races considérées durant ce travail; peuvent être expliquées par l'existence de différences d'origine génétique. Ces résultats doivent être complétés par d'autres études chez autres races bovines, afin de mieux cerner l'effet exact du facteur race sur les paramètres morphométriques des globules rouges. De plus, il semble intéressant de faire des études comparatives entre les mâles et les femelles, chez les différentes races bovine; afin, de voir l'effet exact du facteur sexe sur les paramètres morphométriques des globules rouges. Enfin, notre étude permet également d'établir des valeurs de références pour des mesures numérisées de la circonférence et de la surface apparente des érythrocytes dans les races et les conditions d'élevage étudiées, qui sont présentées dans le **tableau IV**.

CONCLUSION

L'étude de l'influence de la race sur les paramètres morphométriques des globules rouges, réalisée sur des bovins locaux, importés et de croisement a permis de montrer l'existence de différences inter-raciales très importantes et très intéressantes. Les mesures de diamètre et surtout de circonférence et surface, réalisées par imagerie numérique, pourraient servir de base et de complément à l'interprétation de diagnostic sur les

Tableau II. Influence de la race sur la circonférence (exprimées en μm) des globules rouges chez les bovins (Influence of the breed on the circumference (expressed in μm) of red blood cells in cattle).

Groupes	RL	RC	RPHPN	RPHPR	RM	RBA
Globale (n=30)	19,40±1,51 ^a	18,57±0,69 ^b	19,50±1,15 ^a	18,90±0,94 ^b	19,55±0,81 ^a	//
Mâles adultes (n=15)	18,15±1,06 ^a	18,19±0,39 ^a	19,09±1,14 ^b	18,48±0,83 ^a	19,70±0,86 ^c	//
Femelles adultes (n=15)	20,65±0,55 ^{A**}	18,95±0,72 ^B	19,90±1,03 ^{C*}	19,31±0,87 ^{BD*}	19,41±0,75 ^D	19,88±0,64 ^C

RL= Race Locale; RC= Race de Croisement; RPHPN= Race Prim'Holstein Pie-Noire; RPHPR= Race Prim'Holstein Pie-Rouge; RM= Race Montbéliarde; RBA= Race Brune des Alpes. ^{a,b,c} dans une même ligne, lorsque les lettres sont différentes, les différences sont significatives à ($p<0,05$) ^{A,B,C,D} dans une même ligne, lorsque les lettres sont différentes, les différences sont significatives à ($p<0,01$) *indique une différence significative entre les mâles adultes et les femelles adultes à ($p<0,05$) **indique une différence significative entre les mâles adultes et les femelles adultes à ($p<0,01$).

Tableau III. Influence de la race sur la surface (exprimées en μm^2) apparente des globules rouges chez les bovins (Influence of the breed on the apparent surface (expressed in μm^2) of red blood cells in cattle).

Groupes	RL	RC	RPHPN	RPHPR	RM	RBA
Globale (n=30)	22,56±2,49 ^a	20,45±1,30 ^b	22,11±2,62 ^c	20,03±1,89 ^d	22,03±1,65 ^c	//
Mâles adultes (n=15)	20,66±1,83 ^a	20,34±0,98 ^a	21,18±2,28 ^b	19,28±1,71 ^c	22,18±1,76 ^d	//
Femelles adultes (n=15)	24,47±1,30 ^{A***}	20,56±1,58 ^B	23,05±2,66 ^{C**}	20,78±1,80 ^{B**}	21,88±1,58 ^D	23,13±1,46 ^C

RL= Race Locale; RC= Race de Croisement; RPHPN= Race Prim'Holstein Pie-Noire; RPHPR= Race Prim'Holstein Pie-Rouge; RM= Race Montbéliarde; RBA= Race Brune des Alpes. ^{a,b,c,d} dans une même ligne, lorsque les lettres sont différentes, les différences sont significatives à ($p<0,01$) ^{A,B,C,D} dans une même ligne, lorsque les lettres sont différentes, les différences sont significatives à ($p<0,001$) **indique une différence significative entre les mâles adultes et les femelles adultes à ($p<0,01$) ***indique une différence significative entre les mâles adultes et les femelles adultes à ($p<0,001$).

Tableau IV. Récapitulatif sur les nouveaux paramètres morphométriques des globules rouges chez les bovins (Summary of the new morphometric parameters of red blood cells in cattle).

Paramètres	Moyennes	Intervalles
Diamètre (en μm)	5,10	4,30-5,75
Circonférence (en μm)	16,41	16,34-21,51
Surface apparente (en μm^2)	23,13	16,58-27,37

syndromes anémiques en médecine vétérinaire notamment en ce qui concerne les anémies normocytaires, macrocytaires et microcytaires. Ainsi, nous devons souligner que l'étude morphométrique des globules rouges basée sur l'utilisation du logiciel OPTIKA™ Vision Pro, est pratique et directe ; de plus, cette nouvelle méthode de mesure est facile à réaliser et rapide.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements au personnel du département des sciences vétérinaires de l'université de Batna 1 (Algérie), et également à toutes les personnes de près ou de loin qui nous ont guidés et participé, tout au long de la réalisation de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

Adams, G.C. 1954. A technique for the measurement of erythrocyte diameters. *J Clin Pathol*, 7: 76-78.

Adams, R.; Garry, F.B.; Aldrige, B.M.; Holland, M.D. and Odde, K.G. 1992. Hematologic values in newborn beef calves. *Am J Vet Res*, 53: 944-950.

Bacha, W.J.J. and Bacha, L.M. 2000. Color atlas of veterinary histology. 2nd ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. U.S.A.

Buszinski, S. 2004. Analyses hémato-biochimiques courantes chez les bovins, quelles normes bovines à la faculté de Saint-Hyacinthe ? *Le Point Vétérinaire*, 243: 7.

Canfield, P.J. 1998. Comparative cell morphology in the peripheral blood film from exotic and native animals. *Aust Vet J*, 76: 793-800.

Coles, E.H. 1979. Le laboratoire en clinique vétérinaire. Édition Vigot Frères. Paris. France.

Duncan, J.R. and Prasse, K.W. 1986. Veterinary laboratory medicine, clinical pathology. 2nd ed. Iowa State University Press. Ames (IA). U.S.A.

George, J.W.; Lane, V.M. and Snipes, J.N. 2008. Changes in bovine hematology reference intervals from 1965 to 2001. *Vet Clin Path*, 36: 313.

Grondin, T.M. and Dewitt S.F. 2010. Normal hematology of the horse and donkey In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. (Eds.). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Wiley-Blackwell Publishing Ltd. Ames Iowa. U.S.A. pp. 821-828.

Houwen, B. 2000. Blood film preparation and staining procedures. *Lab Hematol*, 6: 1-7.

Jain, N.C. 1986. Schalm's veterinary hematology. 4th ed. Lea and Febiger. Philadelphia. U.S.A.

Kramer, J.W. 2000. Normal hematology of cattle, sheep and goats. In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. (Eds.). Schalm's veterinary hematology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. U.S.A. pp. 1075-1084.

Kumar, B. and Pachauri, S.P. 2000. Haematological profile of crossbred dairy cattle to monitor herd health status at medium elevation in central Himalayas. *Res Vet Sci*, 69: 141-145.

Lateef, A.; Das, A.; Panchasara, H.H.; Nilufar, H. and Sanap, M.J. 2014. Seasonal effects on milk yield, erythrocytic and leukocytic indices of Kankrej cattle (*Bos indicus*). *Vet World*, 7: 472-477.

Médaille, C.; Briend-Marchal, A. et Braun, J.P. 2005. Prélèvement sanguin (Blood sampling). *EMC-Vétérinaire*, 2: 1-13.

Meinkoth, J.H. and Clinkenbeard, K.D. 2000. Normal hematology of the dog. In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. (Eds.). Schalm's veterinary hematology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. U.S.A. pp. 1057-1063.

Mills, J.N. 1998. Interpreting blood smears (Or what blood smears are trying to tell you !). *Aust Vet J*, 76: 569-600.

Penney, R.H.C. and Scofield, A.M. 1966. Haematological values for the clinically normal bull. *Brit Vet J*, 122: 239-247.

Rizzi, T.E.; Meinkoth, J.H. and Clinkenbeard, K.D. 2010. Normal hematology of the dog. In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. (Eds.). Schalm's veterinary hematology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. U.S.A. pp. 799-810.

Roy, S.; Roy, M. and Mishra, S. 2010. Hematological and biochemical profile during gestation period in Sahiwal cows. *Vet World*, 3: 26-28.

Rowlands, G.J.; Little, W.; Stark, A.J. and Mantson, R. 1979. The blood composition of cows in commercial dairy herds and its relation with season and lactation. *Brit Vet J*, 135: 64-74.

Ryan, G.M. 1971. Blood values in cows: erythrocytes. *Res Vet Sci*, 12: 572-575.

Šimpraga, M.; Šmuc, T.; Matanović, K.; Radin, L.; Shek-Vugrovečki, A.; Ljubičić, I. and Vojta, A. 2013. Reference intervals for organically raised sheep: Effects of breed, location and season on hematological and biochemical parameters. *Small Ruminant Res*, 112: 1-6.

Sripad, K.; Kowali, S. and Metri, R. 2014. Hematological profile of Khillar breed of cattle in Karnataka. *Vet World*, 7: 311-314.

Taylor, F.G.; Brazil, T.J. and Hillyer, M.H. 2010. Diagnostic techniques in equine medicine. 2nd ed. W.B. Saunders Company Elsevier Limited. Philadelphia. U.S.A.

Todd, J.C. 1979. Clinical diagnosis by laboratory methods. W.B. Saunders Company. Philadelphia. U.S.A.

Tornquist, S.J. 2010. Hematology of camelids. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. (Eds.). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Wiley-Blackwell Publishing Ltd. Ames Iowa. U.S.A. pp. 910-917.

Wood, D. and Quiroz-Rocha, G.F. 2010. Normal hematology of cattle. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. (Eds.). Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Wiley-Blackwell Publishing Ltd. Ames Iowa. U.S.A. pp. 829-835.