

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master

En

Médecine vétérinaire

THEME

Suivi hormonal de la fonction sexuelle chez la race saanen dans la région de Tizi Ouzou

Présenté par :

Mr SERRAR Ayoub

Mr ABOULAICHE Rachid

Soutenu publiquement, le 22 novembre 2020 devant le jury :

Mr LAMARA A.	PROFESSEUR (ENSV)	Président (e)
Mr ABDELAZIZA.	MAA (ENSV)	Examineur
Mme AOUANE N.	MAA (ENSV)	Examinatrice
Mr SOUAMES S.	MCA (ENSV)	Promoteur

2019-2020

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous tenons à remercier ALLAH tout-puissant, le plus Miséricordieux, pour son soutien qui nous a donné la capacité, la patience et la force de réaliser cette modeste œuvre.

Deuxièmement, nous aimerions exprimer notre sincère gratitude à notre promoteur **Dr SOUAMES Samir**, pour sa disponibilité et sa supervision continue pendant l'exécution de notre travail.

Notre chaleureux remerciement s'adresse aussi à **Pr LAMARA Ali** d'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nous remercions également Dr **ABDELAZIZ** et Dr **AOUANE** qui ont acceptés d'être examinateurs de ce travail.

Nous voudrions exprimer notre gratitude à tous **les enseignants** qui nous ont aidés tout au long de ces 5 grandes années, ainsi que nos collègues de la promotion mais surtout nos chères amis **A .IMED, C.ABDALILLAH, H.ABDELHALIM, A.SOUHEIB, H.HASSEN , B.MALIK, D.ILYES, K.ISMAIL, K.IMENE et Dr Y.Y BENGHALEM.**

Ainsi que le Dr **YAHIA ACHOUR** qui nous a beaucoup aider dans notre travaille

Un grand merci aussi à **Mr LYAZIDE** d'avoir gentiment accepté qu'on fasse notre expérimentation dans son élevage.

Enfin, nous exprimons notre profonde gratitude à nos parents **ABOULAICHE MOHAMED ET ZAHIA / SERRAR MOHAMED ET HADJIRA** ainsi que nos frères et sœurs qui ont contribués à notre réussite.

Dédicaces

*On dédie ce travail à nos chers parents **ABOULAICHE MOHAMMED ET ZAHIA** et **SERRAR MOHAMED ET HADJIRA** pour votre confiance, amour, soutien, et pour le dévouement tout au long de ces longues années qui nous ont permis d'arriver jusque-là.*

*A nos frères et sœurs **FARID ET SOFIANE ABOULAICHE** et **YAAKOUB, KHADIDJA ET CHAIMA SERRAR***

*A nos chers amis **IMAD, HALIM, ABDALILLAH, MASSYLE, ABDALLAH, YUCEF, YOUNES, MALIK, ISMAIL, ILYES, K. IMENE** et **Dr BENGHALEM**.*

*A tous nos collègues de la promotion et surtout de nos groupes de clinique (**groupe 1 et 12**)*

Ainsi qu'à toute personne qui nous a soutenues et encourager durant notre cursus

DECLARATION SUR L'HONNEUR

Nous soussignés, Mrs **SERRAR AYOUB** et **ABOULAICHE RACHID** étudiants de l'école nationale supérieur vétérinaire.

Attestent sur l'honneur que le présent document a été écrit de nos mains, que ce travail est original et que toutes les sources d'information externes et les citations d'auteur ont été mentionnées conformément aux usages en vigueur (nom de l'auteur, nom de l'article, éditeur ; année).

Signatures des étudiants

Two handwritten signatures in blue ink. The first signature on the left is a stylized, cursive script. The second signature on the right is a more geometric, blocky script.

RESUME

Dans l'objectif d'étudier les caractéristiques de la reproduction par dosage hormonal chez la chèvre Saanen (race exotique) élevée dans la région de Tizi Ouzou (commune de Tizi-Rached), une étude expérimentale est réalisée dans un premier temps par des dosages de la progestérone sérique afin de mettre en évidence une éventuelle activité sexuelle en saison estivale, considérée comme étant une période d'anoestrus. Pour ce faire, deux prélèvements sanguins hebdomadaires ont été effectués chez 5 chèvres. Toute progestéronémie supérieure ou égale à 1 ng/ml témoigne une activité lutéale. La phase folliculaire est définie par une progestéronémie basse (< 1 ng/ml).

Dans un second temps, les résultats du dosage de la progestéronémie ont été comparés aux résultats de la cytologie vaginale confirmant ainsi la présence d'une activité sexuelle certaine. Ainsi, la phase lutéale ($P4 \geq 1$ ng/ml) est associée à une prédominance en cellules intermédiaires et parabasales et la phase folliculaire ($P4 < 1$ ng/ml) est suivie d'une prédominance en cellules superficielles. D'après nos résultats on note également la présence d'un intervalle de temps non définit entre le changement du profile hormonal et la modification de la cytologie de la muqueuse vaginale.

Enfin, le dosage hormonal nous a permis de mettre en évidence la présence de cycle court.

Pour conclure, le suivi de l'activité sexuelle par dosage hormonal vient de confirmer que les chèvres Saanen élevées dans les conditions climatiques de la région de Tizi-Ouzou présentent une activité sexuelle annuelle et non pas saisonnière.

Mot clés : Saanen, saisonnalité, progestérone, cytologie vaginale, Tizi Ouzou, cycle sexuel.

ملخص

من أجل دراسة خصائص التكاثر بالجرعة الهرمونية في ماعز سانيين (السلالة الغربية) التي تمت تربيتها في منطقة تيزي وزو (بلدية تيزي رشيد)، تم إجراء دراسة تجريبية أولاً بواسطة المقاييسات مصل البروجسترون لإثبات النشاط الجنسي المحتمل في فصل الصيف، والذي يعتبر فترة انعدام النشاط الجنسي. للقيام بذلك، تم أخذ عينتين دم أسبوعياً من 5 ماعز. يشير أي هرمون بروجسترون أكبر من أو يساوي 1 نانوغرام / مل إلى نشاط الأصفر. يتم تحديد المرحلة الجرابية من خلال انخفاض هرمون البروجسترون في الدم (أقل من 1 نانوغرام / مل)

ثانياً، تمت مقارنة نتائج اختبار البروجسترون بنتائج فحص الخلايا المهبليّة، مما يؤكد وجود نشاط جنسي محدد. وهكذا، فإن المرحلة الأصفرية (نان/مل 1) مرتبطة بغلبة الخلايا الوسيطة وشبه القاعدية ويتبع الطور الجريبي غلبة الخلايا السطحية. تشير نتائجنا أيضاً إلى وجود فاصل زمني غير محدد بين التغيير في المظهر الهرموني والتغيير في علم الخلايا في الغشاء المخاطي المهبلي.

أخيراً، سمح لنا الفحص الهرموني بإبراز وجود دورة قصيرة

في الختام، أكدت مراقبة النشاط الجنسي عن طريق الجرعات الهرمونية أن ماعز سانيين التي تربي في الظروف المناخية لمنطقة تيزي وزو تظهر نشاطاً جنسياً سنوياً وليس موسمياً

الكلمات المفتاحية: سانيين، الموسمية، البروجسترون، علم الخلايا المهبلي، تيزي وزو، الدورة الجنسية.

ABSTRACT

In order to study the characteristics of reproduction by hormonal dosage in the Saanen goat (exotic breed) reared in the region of Tizi Ouzou (municipality of Tizi-Rached), an experimental study is first carried out by assays serum progesterone in order to demonstrate possible sexual activity in the summer season, considered to be a period of anoestrus. To do this, two weekly blood samples were taken from 5 goats. Any progesterone greater than or equal to 1 ng / ml indicates luteal activity. The follicular phase is defined by low progesteroneemia (<1 ng / ml).

Secondly, the results of the progesterone assay were compared with the results of vaginal cytology, thus confirming the presence of definite sexual activity. Thus, the luteal phase ($P4 \geq 1$ ng / ml) is associated with a predominance of intermediate and parabasal cells and the follicular phase ($P4 < 1$ ng / ml) is followed by a predominance of superficial cells. Our results also note the presence of an undefined time interval between the change in the hormonal profile and the change in the cytology of the vaginal mucosa.

Finally, the hormonal assay allowed us to highlight the presence of short cycle.

To conclude, the monitoring of sexual activity by hormonal dosing has just confirmed that the Saanen goats reared in the climatic conditions of the Tizi-Ouzou region exhibit annual sexual activity and not seasonal one.

Keywords : Saanen, seasonality, progesterone, vaginal cytology, Tizi Ouzou, sexual cycle.

LISTE DES ABREVIATIONS

GnRH : gonadotropin releasing hormone

FSH : follicul stimulating hormone

LH : luteinizing hormone

LTH : luteotropic hormone

PGF2 alpha : prostaglandine f2 alpha

min : minute

ml : millilitre

pg : picogramme

ng : nanogramme

% : pourcentage

MGG : May-Grünwald- Giemsa

P4 : Progestérone

RIA : radio-immuno-assay

EIA : Enzyme-immuno-assay

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

AIA : Automatized immunoassay analyzer

C° : Celsius

Sept : septembre

Juil : juillet

Liste des figures

Figure 1 : appareil génital femelle (Castonguay, 2012)	03
Figure 2 : L’endoscopie de l’appareil génital (Stephan Wildeus ,2004)	04
Figure 3 : Utérus de la chèvre d’après (Stephan Wildeus, 2004)	06
Figure 4 : Variation de la durée de la photopériode naturelle et de l’activité sexuelle de la chèvre (Brice, 2003).....	08
Figure 5 : Représentation schématique des différents évènements physiologiques au cours du cycle sexuel chez la chèvre (Fatet et coll, 2010).....	11
Figure 6 : Représentation du comportement sexuel des caprins (Fabre-Nys, 2000).....	12
Figure 7 : Cycle œstral (Heap, 1900).....	13
Figure 8 : Représentation schématique de l’action du photopériodisme sur la reproduction (Brice, 2003).....	16
Figure 9 : Régulation hormonale du cycle sexuel (Chemineau, 1998).....	18
Figure 10 : muqueuse vaginale (Zebiri et Djamai; 2007).....	20
Figure 11 : différent type cellulaire de l’épithélium vaginal (Dr. Chantal KOHLER).....	20
Figure 12 : épithélium avec cellule parabasale (Sellors et Sankaranarayanan 2003).....	21
Figure 13 : Cellules parabasales (GOGNY et FIENI 2016).....	22
Figure 14 : cellules intermédiaires polychromatophiles (Duthey, 2016).....	23
Figure 15 : cellules superficielles sous microscope optique (DUMON 2009).....	23
Figure 16 : cellule metoestral (Mialot, 1984).....	24
Figure 17 : cellule spumeuse colorée au May-Grünwald-Giemsa au grossissement 1000 (Johnston <i>et al</i> , 2001).....	24
Figure 18 : cellule superficielle présentant des corps cytoplasmiques colorée au May-Grünwald- Giemsa au grossissement 1000 (Johnston <i>et al</i> , 2001).....	25
Figure 19 : cellules clitoridiennes colorée au May-Grünwald-Giemsa au grossissement 400 (Johnston <i>et al</i> , 2001).....	25

Figure 20 : frottis vaginal en période de pro œstrus (Bouricha ,2003).....	28
Figure 21 : frottis vaginale en période d'œstrus ((BOWEN, 2003).....	29
Figure 22 : frottis vaginal en période de metoestrus (Dumon, 2009).....	30
Figure 23 : frottis vaginal en période de pro œstrus (Antonov, 2016).....	30
Figure 24 : frottis vaginale en période d'anoestrus (Professeur Sylvie CHASTANT ; Docteur Patricia RONSIN).....	31
Figure 25 : les cellules de l'épithélium vaginal observables sur un frottis vaginal (Neveux, 1999).....	31
Figure 26 : écouvillonnage chez la chèvre (Nicol, 2019).....	32
Figure 27 : Techniques d'étalement d'un frottis vaginal (EILTS, 2007).....	33
Figure 28 : colorant MGG (Amazon UK).....	35
Figure 29 : matériel pour coloration MGG (England et Concannon 2002).....	35
Figure 30 : lame après coloration Mechegueg (Mohand-Arezki et Benelhadj, 2017).....	35
Figure 31 : Matériel pour coloration d'Harris-Schorr (Pierson et al, 1999).....	36
Figure 32 : Frottis vaginaux de chienne aux différentes phases du cycle œstral, colorés avec la méthode du trichrome d'Harris-Schorr (Pierson et al, 2002).....	37
Figure 33 : frottis coloré avec la coloration de Papanicolaou (HERON, 2006).....	37
Figure 34 : Lame du frottis vaginal en Phase de proestrus (Mohand-Arezki et Benelhadj, 2017).....	38
Figure 35 : Evolution des niveaux de progestérone plasmatique pendant l'anoestrus, au cours du cycle et au début de la gestation.....	40
Figure 36 : concentration plasmatique moyenne de progestérone durant le cycle œstral chez la chèvre (Tamboura, Sawadog, 1998).....	41
Figure 37 : Carte géographique de la région d'étude la Wilaya de Tizi Ouzou, commune de Tizi Rached village Taboukert (2020).....	46

Figure 38 : Tubes secs vacutainer sous vide (photo personnelle 2020).....	47
Figure 39 : aiguilles double sens (photo personnelle 2020).....	47
Figure 40 : portes aiguilles (photo personnelle 2020).....	47
Figure 41 : centrifugeur (photo personnelle 2020).....	48
Figure 42 : Micropipette et embouts (photo personnelle 2020).....	48
Figure 43 : ependorfs étiquetés (photo personnelle 2020).....	48
Figure 44 : glacière portable (photo personnelle 2020).....	49
Figure 45 : glace portable (photo personnelle 2020).....	49
Figure 46 : l'appareil A.I.A 360	49
Figure 47 : réactifs ST AIA-PACK PROG	49
Figure 48 : spéculum vaginal (photo personnelle 2020).....	50
Figure 49 : écouvillons stériles (photo personnelle 2020).....	50
Figure 50-51 : Colorants May Grunwald Giemsa (photo personnelle 2020).....	50
Figure 52 : lames et microscope optique (photo personnelle 2020).....	51
Figure 53 : lames propres (photo personnelle 2020).....	51
Figure 54 : lame pendant la coloration (photo personnelle 2020).....	53
Figure 55 : lame après la coloration (lame personnelle 2020).....	53
Figure 56 : cellule intermédiaire observées lors du comptage (photo personnelle 2020).....	54
Figure 57 : cellule metœstrales (PPN) et globule rouge observées lors du comptage (photo personnelle 2020).....	54
Figure 58 : cellules superficielles avec corps cytoplasmiques (photo personnelle 2020).....	54
Figure 59 : frottis vaginale après ovulation (photo personnelle 2020).....	54
Figure 60 : La concentration de la progestérone pour la chèvre 10 (13-juil au 23 sept).....	55
Figure 61 : La concentration de la progestérone pour la chèvre 16 (13-juil au 20-sept).....	56
Figure 62 : La concentration de la progestérone pour la chèvre 31 (13-juil au 20-sept).....	56

Figure 63 : La concentration de la progestérone pour la chèvre 34 (13-juil au 20-sept).....57

Figure 64 : La concentration de la progestérone pour la chèvre 41 (13-juil au 20-sept).....58

Liste des tableaux

Tableau 1 : Nombre et fréquence des prélèvements nécessaires pour définir l'état physiologique d'une femelle par estimation des niveaux de progestérone sérique (Thimonier, 2000).....	39
Tableau 2 : Niveau de progestérone plasmatique périphérique et état physiologique chez la chèvre (Thimonier, 2000).....	41
Tableau 3 : Evolution de la composition cellulaire d'un frottis vaginal autour de l'ovulation (Noakes, 2001).....	44
Tableau 4 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 10.....	59
Tableau 5 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 16.....	60
Tableau 6 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 31.....	61
Tableau 7 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 34.....	62
Tableau 8 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 41.....	63

Table des matières

Partie bibliographique

Chapitre 1 : ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL GENITAL

FEMELLE

1.1) Rappel anatomique de l'appareil génital femelle caprine.....	03
1.1.1) Les gonades (ovaires)	04
1.1.2) Les voies génitales de la femelle.....	05
1.1.2.1) L'organe génital interne	05
1.1.2.1.1) Oviducte ou trompe de Fallope.....	05
1.1.2.1.1.1) Portion interstitielle.....	05
1.1.2.1.1.2) L'Isthme.....	05
1.1.2.1.1.3) L'ampoule.....	05
1.1.2.1.1.4) Le pavillon ou l'infundibulum.....	05
1.1.2.1.2) Utérus.....	05
1.1.2.1.2.1) les cornes utérines.....	06
1.1.2.1.2.2) Le corps utérin.....	06
1.1.2.1.2.3) Le col utérin ou cervix.....	06
1.1.2.2) Les organes génitaux externes.....	07
1.1.2.2.1) Le vagin.....	07
1.1.2.2.2) La vulve.....	07
1.1.2.2.3) Le clitoris.....	07
1.2) Rappel physiologique de l'appareil génital femelle caprine.....	07
1.2.1) La puberté et l'activité sexuelle.....	07
1.2.1.1) La puberté.....	07
1.2.1.2) L'activité sexuelle.....	08

1.2.2) Facteurs qui influencent sur la reproduction.....	09
1.2.2.1) La saison.....	09
1.2.2.2) Effet bouc.....	09
1.2.2.3) Le Flushing.....	10
1.2.2.4) Le stade physiologique.....	10
1.2.3) Le cycle sexuel.....	10
1.2.3.1) Le pro-estrus.....	11
1.2.3.2) L'oestrus.....	12
1.2.3.3) Metoestrus.....	12
1.2.3.4) Dioestrus.....	12
1.4) Les hormones de la reproduction.....	13
1.4.1) Les hormones hypothalamiques.....	13
1.4.2) Les hormones gonadotropes d'origine hypophysaire.....	13
1.4.2.1) FSH	13
1.4.2.2) LH.....	14
1.4.2.3) La prolactine ou LTH.....	14
1.4.2.4) L'ocytocine.....	14
1.4.3) Les hormones stéroïdes d'origine gonadique.....	14
1.4.3.1) Les œstrogènes	14
1.4.3.2) Les progestérones.....	15
1.4.3.3) L'inhibine.....	15
1.4.4) Les facteurs utérins.....	16
1.4.4.1) La prostaglandine (PgF2 alpha).....	16
1.4.5) La Mélatonine.....	16

1.5) Régulation hormonale.....	17
--------------------------------	----

Chapitre 2 : CYTOLOGIE VAGINALE

2.1) Composition de la muqueuse vaginale	19
2.1.1) Histologie de la muqueuse vaginale	19
2.1.1.1) L'épithélium	19
2.1.1.2) Chorion	19
2.1.2) Composition cellulaire de la muqueuse vaginale	20
2.1.2.1) Les cellules basales	21
2.1.2.2) Les cellules parabasales	21
2.1.2.3) Les cellules intermédiaires	22
2.1.2.4) Les cellules superficielles	23
2.1.2.5) Les cellules metœstrales	24
2.1.2.6) Les cellules spumeuses ou « foamcells »	24
2.1.2.7) Les cellules superficielles contenant des corps cytoplasmiques	25
2.1.2.8) Les cellules de la fosse clitoridienne	25
2.2) Modifications cytologiques provoquées par des hormones	26
2.3) Les variations cytologiques au cours du cycle œstral	26
2.3.1) Cytologie de la muqueuse vaginale au cours du cycle œstral	27
2.3.1.1) Phase folliculaire ou oestrogénique	27
2.3.1.1.1) Le proestrus	27
2.3.1.1.2) L'œstrus	28
2.3.1.2) Phase lutéale ou progestéronique	29
2.3.1.2.1) Le metoestrus	29
2.3.1.2.1) Le dioestrus	30

2.3.1.3) L'anoestrus.....	31
2.4) Les frottis vaginaux.....	32
2.4.1) Technique de réalisation	32
2.4.1.1) Prélèvement.....	32
2.4.1.2) Etalement.....	33
2.4.1.3) fixation.....	33
2.4.2) Coloration du frottis.....	33
2.4.2.1) la coloration au bleu de méthylène.....	33
2.4.2.2) La coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG)	34
2.4.2.3) La coloration de Harris-Shorr	36
2.4.2.4) La coloration de Papanicolaou.....	37
2.5) Observation au microscope.....	37

Chapitre 3 : DOSAGE HORMONAL DE LA PROGESTERONE SERIQUE

3.1) Généralités	39
3.2) Variation de la progésteronémie selon l'état physiologique.....	39
3.3) Techniques de dosage de la progestérone.....	42
3.3.1) Méthodes quantitatives	42
3.3.1.1) Méthodes radio-immunologiques.....	42
3.3.1.2) Méthodes immuno-enzymatiques.....	42
3.3.2) Méthodes semi quantitatives.....	43
3.4) Corrélation de la cytologie avec dosage hormonal.....	43

Partie expérimentale

Chapitre 4 : Suivi de la saisonnalité de la chèvre par dosage de la progestérone sérique

4.1) Objectifs	46
4.2) Matériels et Méthodes	46
4.2.1) Région d'étude	46
4.2.3) Matériels.....	47
4.2.3) Méthodes.....	51
4.3) Résultats.....	55
4.3.1) Résultat du dosage hormonal	55
4.3.2) Relation entre les résultats cytologiques et le dosage hormonal.....	59
4.4) Discussion	64
4.5) Conclusion	66

Recommandations et perspectives

References

Annexes

INTRODUCTION

La filière caprine dans le monde commence à prendre de l'ampleur, comme en France où l'élevage intensif de chèvre laitière gagne du terrain surtout pour leur fromage très prisé par les amateurs du fromage de chèvre.

Par contre en Algérie l'élevage caprin est majoritairement familial, les élevages spécialisés dans le lait et le fromage de chèvre se font très rares, ceci dû à une production trop réduite.

Le rationnement de l'alimentation et surtout la conduite de reproduction sont des facteurs très importants pour l'optimisation de la production de chevreaux et de lait.

Ainsi, pour l'amélioration de la productivité il faut passer par l'amélioration des performances de reproduction pour arriver à l'intensification des élevages et introduire des nouvelles biotechnologies comme l'insémination artificielle et le transfert embryonnaire, pour cela il faut une très grande maîtrise des paramètres de reproduction et l'anatomophysiologie de l'espèce caprine, ainsi la chèvre présente un cycle discontinu qui varie selon la saison contrôlé par le photopériodisme.

L'exposition aux nuits longues active la cyclicité des chèvres par l'intermédiaire de la mélatonine et s'arrête en présence de nuits courtes, ce phénomène est appelé anoestrus saisonnier.

Sur le plan endocrinien les concentrations des hormones sexuelles lors d'anoestrus sont à leurs taux le plus bas, dès que la fonction sexuelle reprend, sous l'effet de la mélatonine (sécrétée par l'épiphyse) elle agit sur l'hypothalamus pour la sécrétion de la GNRH qui, à son tour provoque la libération de la FSH et LH par l'antéhypophyse pour agir sur l'ovaire et sécréter selon les phases, de l'œstradiol ou de la progestérone.

Ces deux hormones agissent entre autre sur l'épithélium vaginal et causent des changements cytologiques visibles sur un frottis vaginal qui peut nous permettre de repérer une activité sexuelle en jouant ainsi le rôle de miroir par rapport au profil hormonal.

Pour ce qui est de la progestérone ses taux les plus élevés sont notés en phase lutéale et régresse à des doses basales en phase folliculaire et en période d'anoestrus.

Par conséquent, la cytologie vaginale et le dosage hormonal peuvent être utilisés comme moyens complémentaires pour la détection d'une activité sexuelle.

En vue des rares études réalisées sur les caractéristiques de la variation saisonnière du cycle sexuel des chèvres élevées en Algérie, cette présente étude a pour objectif principal d'étudier les caractéristiques de la reproduction, par le dosage hormonal de la progestérone, ainsi que sa relation avec les résultats obtenus par cytologie vaginale chez la chèvre Saanen (race exotique) élevée dans les conditions climatiques de la région de Tizi-Ouzou.

Chapitre 1 : ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DE L'APPAREIL GENITAL FEMELLE

1.1) Rappel anatomique de l'appareil génital femelle caprine

Le rôle de l'appareil reproducteur femelle est plus complexe que celui de mâle, il ne se limite pas à l'élaboration de gamètes femelles et à leur cheminement, en effet, c'est dans le tractus génital femelle que le sperme du mâle est déposé. Les gamètes mâles et femelles se rencontrent et la fécondation a lieu. L'œuf obtenu se développe pour donner un nouvel être vivant. (Couailler, 2005)

L'appareil génital est constitué de :

- deux gonades ou ovaires élaborant les gamètes et les hormones sexuelles de la femelle
- les voies génitales dont :
 - les voies génitales Internes :
 - l'oviducte : lieu de la fécondation
 - l'utérus : lieu de la gestation
 - les voies génitales Externes :

Le vagin et la vulve : organes d'accouplement (Bonnes et al, 1988) (**figure 1**).

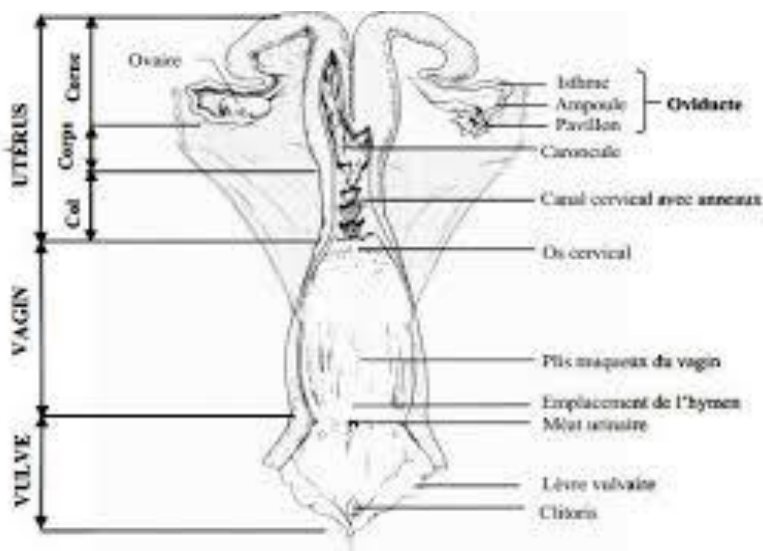


Figure 1 : appareil génital femelle (Castonguay, 2012)

1.1.1) Les gonades (ovaires)

Glandes sexuelles au nombre de deux (Barrone ,1990) se situent dans la cavité abdominale plus au moins en arrière des reins après l'entrée du bassin, placées au-dessous de la région sous lombaire incomplètement encapuchonnées dans un repli de ligament large (Thibaulte et Levasseur, 2001) son poids varie selon le moment du cycle et la saison entre 3 et 5 g (Meyer, 2008).

La glande génitale femelle ou ovaire est douée d'une double fonction :

- fonction gamétogène (exocrine) : élaboration et libération des gamètes femelles
- fonction hormonogène (endocrine) : synthèse d'hormones commandant l'activité génitale de la femelle (Vaissaire, 1977).

Les deux fonctions sont sous la dépendance de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien. (Grignon, 1996).

L'ovaire est fait, sous un revêtement de structure peu variable, d'un support conjonctif ou stroma, contenant les autres constituants qui se répartissent en deux zones : l'une centrale ou Médullaire, formée du stroma conjonctif et de fibres musculaires et l'autre périphérique ou cortical (cortex), sous forme d'une densification du stroma, elle-même soutenue par des fibres réticulées. La grande élasticité du stroma permet l'évolution périodique des organites ovariens (follicule ovarien et corps jaune) (Cross et Mercer, 1993).

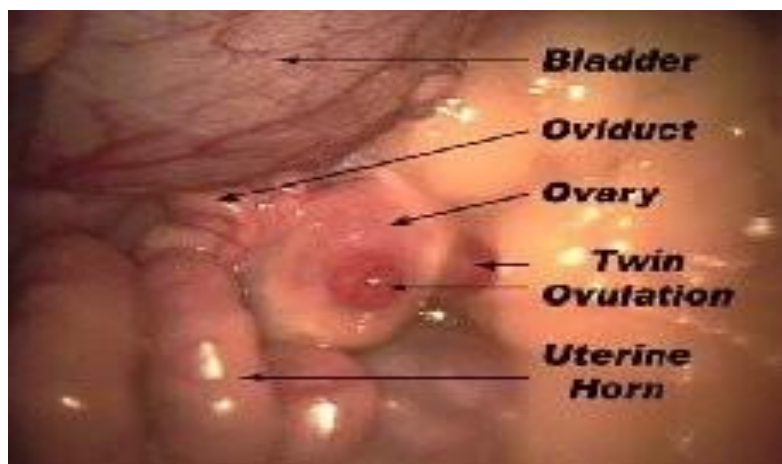


Figure 2 : L'endoscopie de l'appareil génital (Stephan Wildeus ,2004)

1.1.2) Les voies génitales femelle

1.1.2.1) L'organe génital interne

Mesure environ 40cm pour une chèvre adulte, il est enroulé sur lui-même lorsque la chèvre n'est pas gestante. (Jean, 1991).

1.1.2.1.1) Oviducte ou trompe de Fallope

C'est la partie initiale des voies génitales de la femelle. Le Salpinx ou trompe de Fallope est un conduit flexueux, pair et étroit (Barrone, 1990), Tube circonvolutionné de 15 à 19 cm de long (Baril et Chemineau 1993).

Chaque oviducte se compose des segments suivants

1.1.2.1.1.1) Portion interstitielle

Elle s'ouvre dans la bourse ovarique. Elle peut s'appliquer sur le bord libre de l'ovaire pour recueillir le ou les gamètes émis par l'ovaire au moment de l'ovulation (Bonnes et al, 1988).

1.1.2.1.1.2) L'Isthme

Il est la partie la plus courte et la plus étroite de l'oviducte, directement relié à l'utérus par la jonction utero-tubaire. (Baril et Chemineau, 1993).

1.1.2.1.1.3) L'ampoule

Elle est la partie la plus longue et la plus large de l'oviducte où les œufs sont conservés plusieurs jours après l'ovulation. C'est le lieu de la fécondation. (Baril et Chemineau, 1993).

1.1.2.1.1.4) Le pavillon ou l'*infundibulum*

Il coiffe la face interne de l'ovaire (forme d'un entonnoir) et porte des franges très mobiles qui vont capter l'ovule à la sortie du follicule, le transport du zygote de l'ampoule jusqu'à l'utérus est assuré grâce à des cellules ciliées de l'épithélium de la lumière du pavillon et de même le liquide tubaire permet la survie des spermatozoïdes et de l'œuf (avant et après la fécondation) (Barrone, 1990).

1.1.2.1.2) Utérus

C'est l'organe de gestation, l'utérus bipartite avec cloison médiane (voilé) chez les ruminants (Christine Bonnet-Cadilhac, 1997) il est destiné à recevoir l'œuf fécondé en assurant la fixation et à réaliser l'expulsion du nouveau-né au cours de mise bas (Barrone, 1990).

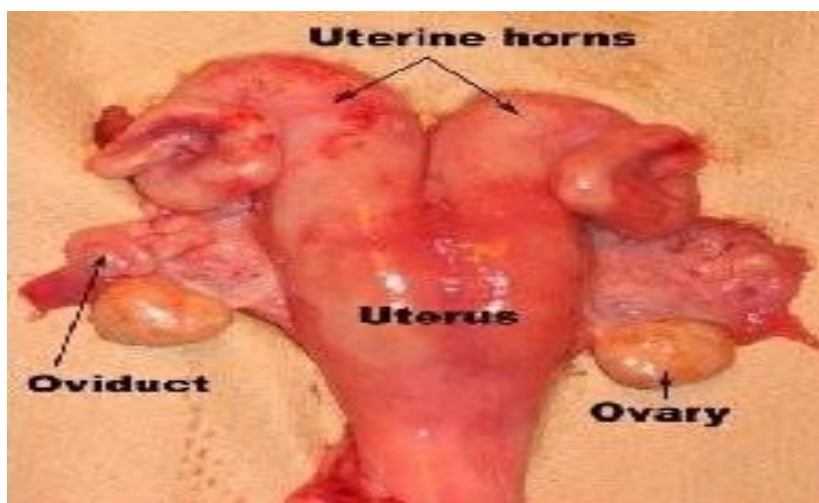


Figure 3 : Utérus de la chèvre d'après (Stephan Wildeus, 2004)

Il est constitué de 3 parties :

1.1.2.1.2.1) Les cornes utérines

Elles font suite aux oviductes et mesurent 10 à 12cm de longueur (Bressou, 1978 ; Soltner, 1993). Les cornes utérines sont spiralées, longuement accolées par leur base et ne présentent qu'un seul ligament intercornual.

Les caroncules chez la chèvre se caractérisent par un polymorphisme, les gros sont plats et les petits sont excavés en cupule (Beckers ,2002).

1.1.2.1.2.2) Le corps utérin

C'est un court cylindre, il mesure, chez la chèvre, 2 à 3cm de longueur (Barrone, 1900).

C'est la continuité des cornes, il est délimité postérieurement par le col ou le cervix. Le nombre des caroncules à ce niveau est réduit par rapport à celui des cornes. (Beckers, 2002).

1.1.2.1.2.3) Le col utérin ou cervix

Il est constitué par un fort épaissement de la paroi du conduit génital. Le col s'interpose entre les cavités utérine et vaginale. Celles-ci communiquent entre elles par un étroit canal cervical (Vaissaire, 1977).

1.1.2.2) Les organes génitaux externes

1.1.2.2.1) Le vagin

C'est un conduit cylindroïde qui s'étend du col de l'utérus à la vulve, il constitue avec elle l'organe d'accouplement de la femelle permettant ainsi le passage du fœtus à l'occasion de la parturition (Drion et al, 1993).

La paroi vaginale comporte :

- un adventice fait d'un tissu conjonctif dense pourvu de fibres élastiques.
- une musculature constituée essentiellement de fibres musculaires lisses circulaires et longitudinales, et des fibres élastiques
- une muqueuse comprenant un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé et un chorion de tissu conjonctif dépourvu de glandes (Vaissaire, 1977).

1.1.2.2.2) La vulve

Le vestibule commun aux voies urinaire et génitale, la vulve se termine par le canal génital qui a une forme ovale (Derivaux et Ectors, 1980). Les lèvres vulvaires sont peu saillantes et le relief qui porte la commissure ventrale est court (Barrone, 1990).

2.1.2.2.3) Le clitoris

Il est court chez la chèvre, organe érectile et sensible (Baril et al, 1993) ses racines sont deux corps clairs, aplatis, minces, recouverts de muscles ischio-caverneux rudimentaires, logés dans la commissure inférieure de la vulve (long mais replier sur lui-même 2 à 2,5 cm) (Barrone, 1990) étroitement en capuchonné à son extrémité dans une cavité muqueuse (Bressou, 1978).

1.2) Rappel physiologique de l'appareil génital femelle caprine

1.2.1) La puberté et l'activité sexuelle

1.2.1.1) La puberté

La puberté a été définie comme l'ensemble des phénomènes anatomique, histologique et hormonaux rendant possible la reproduction d'un animal. Ce processus implique donc le passage d'un état d'inactivité ovarienne à celui d'une activité régulière aboutissant à une ovulation suivie d'un développement lutéal normale (Hanzen, 2009-2010).

Elle peut être aussi définie comme l'âge et le poids auxquels les animaux sont capables de se reproduire qui correspond à la fécondité des femelles lors de l'œstrus et leur capacité de conduire une gestation jusqu'à son terme (Baril, 1993).

La chevrette exprime sa première chaleur vers 6-7 mois. Cependant, la puberté est fortement

dépendante du poids, du mois de naissance et de la race. En général, la puberté n'est atteinte que pour un poids de 40 à 60 % du poids adulte, soit entre 5 et 18 mois. Il est d'ailleurs conseillé de ne mettre à la reproduction que les chevrettes ayant atteint un développement suffisant, soit 28 à 35 kg selon les races. De plus, la puberté ne peut se déclencher qu'en saison sexuelle. Ainsi les femelles nées en hiver ou au début du printemps atteindra la puberté à l'automne ou à l'hiver suivant si elles ont un développement corporel suffisant, sinon la puberté sera décalée à la saison sexuelle suivante soit vers 18 mois (Chanvallon, 2012).

1.2.1.2) L'activité sexuelle

Dans les régions tempérées, l'activité sexuelle est interrompue en certaines périodes de l'année, elle est dite à activité saisonnière. Les variations saisonnières de l'activité sexuelle sont étroitement liées à la variation de la durée de la phase claire (jour) et de la phase sombre (nuit) des jours (Zarrouk, 2001)

La période d'activité sexuelle débute en septembre, atteint son intensité maximum vers la mi-octobre et se poursuit jusqu'en fin décembre. (Derivaux, 1971.) Par contre, en région tropicale, en général les chèvres ne présentent pas une saisonnalité marquée dans cette région, les chèvres se reproduisent pendant toute l'année. (Moussa, 2005.)

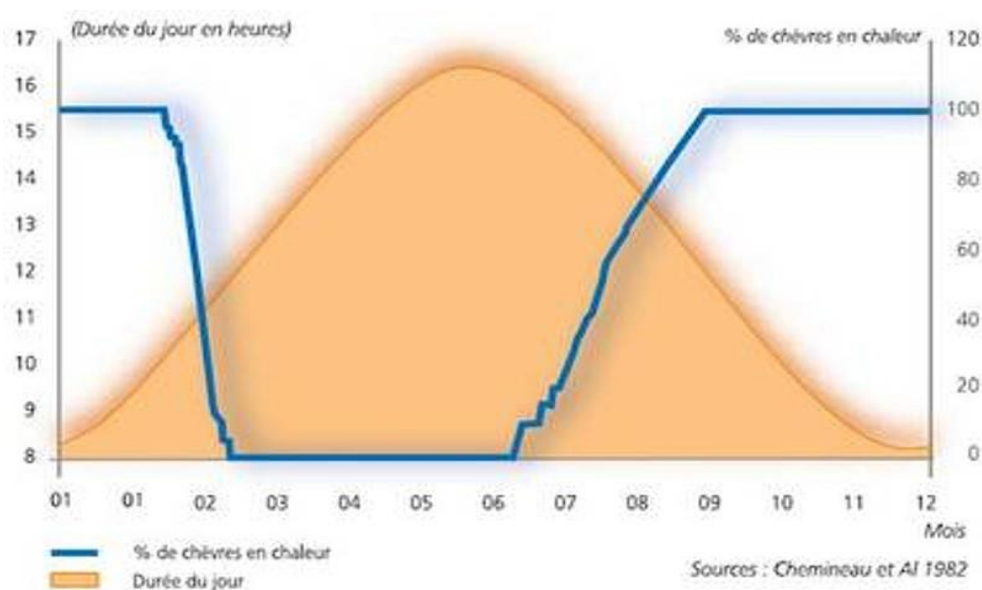


Figure 4 : Variation de la durée de la photopériode naturelle et de l'activité sexuelle de la chèvre (Brice, 2003).

1.2.2) Facteurs qui influencent sur la reproduction

1.2.2.1) La saison

Les caprins des pays tempérés manifestent d'importantes variations saisonnières de leur activité sexuelle sous l'effet de différents facteurs, essentiellement la photopériode. Cependant, il existe une activité sexuelle maximale s'étendant, généralement, d'août à janvier, et une période d'activité sexuelle minimale de février à juillet (Hanzen, 2004). Au contraire, les races tropicales et subtropicales peuvent se reproduire pendant toute l'année ou mettre bas en des périodes précises, en relation avec des facteurs environnementaux autres que la photopériode (Lebœuf et al, 2003).

Les caprins des races Saanen et Alpine présentent des variations saisonnières de leur activité sexuelle tant chez le mâle que chez la femelle. Ces dernières sont étroitement liées à la variation de la durée de la phase claire et de la phase sombre des jours, les jours courts (8h de lumière/j) stimulent, chez la femelle, l'activité ovulatoire et, chez le mâle, la production spermatique, tandis que les jours longs les inhibent (Chemineau et al, 1998).

Cette saisonnalité est gouvernée par la photopériode ; l'apparition des chaleurs coïncide avec la diminution de la durée du jour (Zarrouk et al, 2001).

2.2.2.2) Effet bouc

En dehors de la saison sexuelle, la simple introduction du bouc au sein d'un groupe de chèvre peut induire l'ovulation dans les 2 jours qui suivent (Baril et al, 1993). Cette ovulation se succède d'un cycle, soit de durée normale, soit de courte durée. Près des deux tiers des chèvres manifestent un œstrus dès la première ovulation, et la seconde est toujours associée à un œstrus, même si le cycle ovulatoire est de courte durée (Chemineau et al, 2001).

L'effet bouc nécessite, préalablement, un isolement total des deux sexes pendant au moins 3 semaines « ni vue, ni ouïe, ni odeur ». Ses résultats dépendent de la profondeur de l'anoestrus, de la nature et de la qualité de la stimulation, de la race et de l'état physiologique des femelles (Monniaux, 2003).

1.2.2.3) Le Flushing

Il s'agit d'une augmentation temporaire du niveau énergétique de la ration de façon à compenser une alimentation insuffisante ou un mauvais état corporel, car le poids vif a une influence déterminante sur le taux d'ovulation (Hanzen, 2004).

Une alimentation équilibrée tant au niveau énergétique qu'azoté est nécessaire au bon déclenchement des chaleurs. Un « flush alimentaire » commencé quelques semaines avant la saison d'accouplement permet d'améliorer sensiblement la prolificité des chèvres et de réduire la mortalité embryonnaire. (Chanvallon, 2012).

1.2.2.4) Le stade physiologique

- Allaitement : l'allaitement joue un rôle primordial sur la durée de l'anœstrus lactation, son effet se traduit par l'allongement de l'intervalle parturition – première ovulation avec l'œstrus (Mandiki et al, 1988) notent que la reprise du cycle sexuel normal est plus rapide lorsque le sevrage est pratiqué dès la naissance des chevreaux.
- Lactation : Chez les chevrettes et les chèvres tarées, les cycles commencent plus tôt et se terminent plus tard d'environ un mois par rapport aux animaux en lactation (Zarrouk et al, 2001).

La période post-partum est un moment de l'année où le cycle sexuel normal est perturbé. Durant cette période, les phénomènes physiologiques liés au cycle sont ralentis. De même que pour la vache, pour obtenir un pourcentage de conception optimal, la période minimale entre le chevrotage et la première saillie doit être de 60 à 80 jours, de façon à permettre à tous les mécanismes physiologiques de se rétablir.

1.2.3) Le cycle sexuel

La durée moyenne du cycle sexuel est de 21 jours avec d'importantes variations en fonction de la race et du moment de la saison sexuelle. Des cycles œstraux courts sont observés en début de la saison d'activité sexuelle probablement associés à une régression prématurée du corps jaune (Chanvallon, 2012).

Le cycle sexuel se divise en deux phases :

- une phase folliculaire : chez la chèvre, elle dure 2 à 3j et correspond à la période recrutement – sélection – dominance de la croissance folliculaire terminale jusqu'à l'ovulation

- une phase lutéale : d'une moyenne de 16j (15 à 17j). elle s'étend de l'ovulation jusqu'à la fin de la lutéolyse (Zarrouk et al, 2001 ; Levasseur, 2001). (Figure 20)

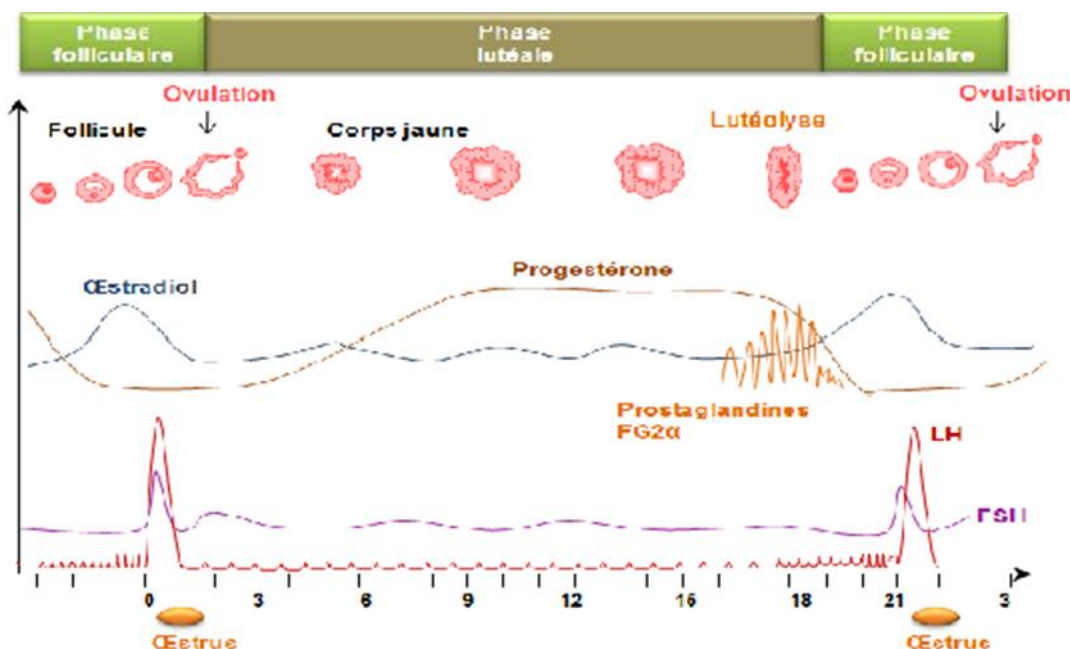


Figure 5 : Représentation schématique des différents événements physiologiques au cours du cycle sexuel chez la chèvre (Fatet et coll, 2010).

Habituellement, un cycle sexuel est divisé en quatre phases :

- le pro-œstrus : période préparatoire aux chaleurs,
- l'œstrus : période d'acceptation du mâle,
- le metoœstrus : installation du corps jaune et d'un état pré gravidique de l'utérus,
- le dioœstrus : phase d'activité du corps jaune (Drion et al, 1993).

1.2.3.1) Le pro-œstrus

C'est la phase de croissance accélérée et de maturation finale d'un ou de plusieurs follicules à antrum (follicule pré-ovulatoires) destiné à ovuler. Selon (Zarrouk et al. 2001), chez la chèvre, les follicules ovariens au stade secondaire, entrent en croissance par vagues de 4 à 3-4 jours d'intervalle par cycle. Parallèlement à cette croissance folliculaire on observe des changements caractéristiques dans les oviductes, l'utérus et le vagin. Le pro- œstrus dure 2 à 3 jours chez la chèvre (Zarrouk et al. 2001). C'est également pendant cette phase que se termine la lyse du corps jaune précédent.

1.2.3.2) L'œstrus

L'œstrus, seule période visible du cycle, dure 24 à 48h. Cette variation est sous l'influence de différents facteurs, entre autres, la race, l'âge, la saison et la présence des mâles (Zarrouk et al, 2001). Il est appelé communément chaleurs, il dure en moyenne 36 heures avec des variations extrêmes de 22 à 48 heures. L'ovulation a lieu en fin des chaleurs entre la 24^{-eme} 36^{-eme} heure (Lemelin, 2002). A la fin du cycle œstral, la femelle entre en œstrus : son comportement est modifié ainsi que ses organes de reproduction (Brice, 2000). :

- la chèvre est nerveuse elle s'agite anormalement.
- Cchevauche et accepte d'être chevauchée par d'autres femelles.
- elle bêle et remue fréquemment la queue.
- sa vulve humide laisse s'écouler un mucus permettant à l'éleveur d'identifier les chaleurs de son animal sans trop d'erreurs
- elle s'immobilise dans une posture caractéristique en présence du male.

En absence de male, les chaleurs sont difficiles à détecter. Les phéromones jouent un rôle majeur chez la chèvre particulièrement lors du rapprochement sexuel. (Jainudeen Hafez, 2002).

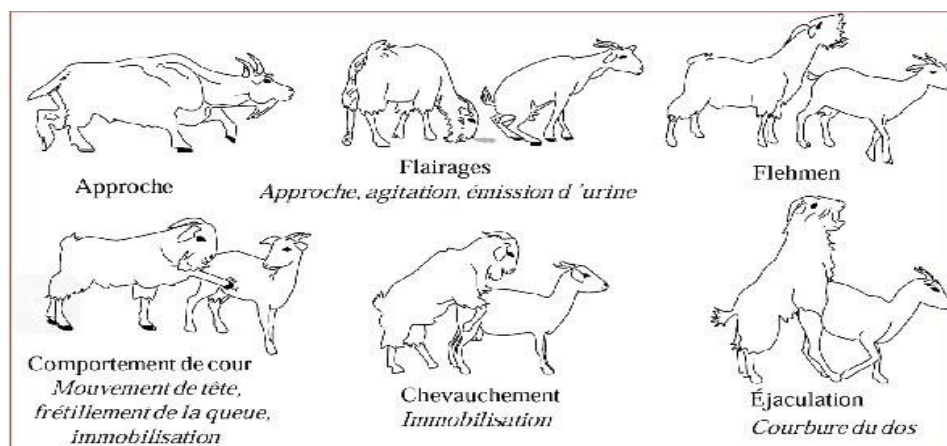


Figure 6 : Représentation du comportement sexuel des caprins (Fabre-Nys, 2000).

1.2.3.3) Metoestrus

C'est la phase d'installation du corps jaune, elle se traduit par une colonisation du caillot sanguin, consécutif à l'ovulation par les cellules de la granulosa et des thèques pour donner des cellules lutéales (Gressier 1999).

1.2.3.4) Dioestrus

C'est la phase d'activité du corps jaune ou phase lutéale avec excrétion importante de progestérone. Le dioestrus chez la chèvre dure 5 à 18 jours (Gayrard, 2007).

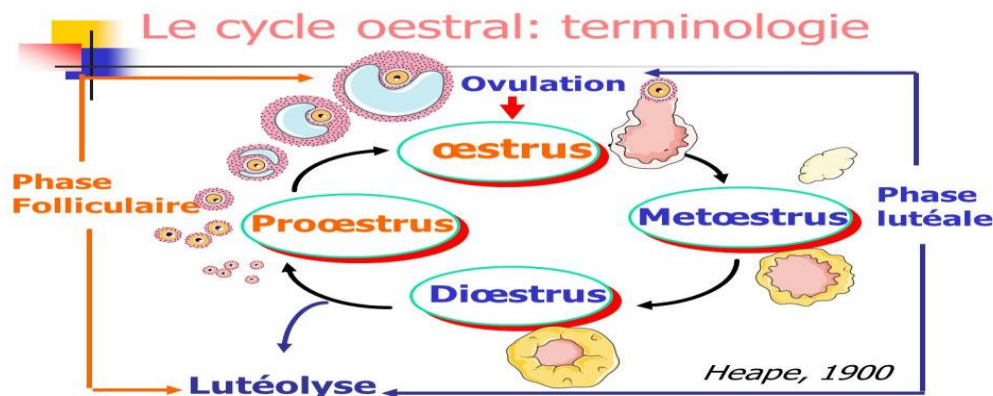


Figure 7 : Cycle œstral (Heap, 1900)

1.4) Les hormones de la reproduction

Les hormones sont des substances véhiculées par la circulation sanguine et elles permettent à différents organes de communiquer entre eux. Plusieurs hormones interviennent dans l'endocrinologie de la reproduction :

1.4.1) Les hormones hypothalamiques ou « releasing-factor »

Les hormones hypothalamiques dont le rôle consiste à contrôler la synthèse et la libération des hormones hypophysaires :

L'hypothalamus est un carrefour entre le système nerveux et l'appareil endocrinien, reçoit des stimuli internes et externes et commande par l'intermédiaire d'un neurone protidique GnRH (Bonnes, 2005).

1.4.2) Les hormones gonadotropes d'origine hypophysaire

Les hormones gonadotropes d'origine hypophysaire dont dépendent la maturation gamétique et la stimulation de sécrétion des hormones stéroïdiennes par les gonades :

1.4.2.1) FSH

C'est une glycoprotéine, responsable de la maturation des follicules, détermination de l'ovulation et la formation du corps jaune (Bonnes, 2005).

La production de la FSH dans le lobe antérieur de l'hypophyse peut être inhibée par la progestérone du corps jaune (Rotten, 2001).

1.4.2.2) LH

La LH est une hormone lutéinisante, qui provoque l'ovulation. Elle est responsable de la transformation du follicule mûr en corps jaune et stimule la sécrétion de progestérone à partir de cholestérol au niveau des cellules.

Pour ce qui concerne le mode de sécrétion, une sécrétion tonique continue tous le long du cycle sexuel et une sécrétion cyclique (Pic de LH) qui vient à la fin de chaque cycle œstral pour induire l'ovulation et la lutéinisation (Dupouy, 1992).

2.4.2.3) La prolactine ou LTH

La prolactine n'est pas considérée comme une hormone gonadotrope. Son rôle principal est la stimulation de la sécrétion lactée. Cependant elle joue un rôle important dans la reproduction des animaux domestiques. Elle est responsable de la sécrétion de progestérone par le corps jaune et de son maintien lors de la gestation. Le pic d LH dans le sang précède celui de LTH et se prolonge plus longtemps (Deriveaux, 1976).

1.4.2.4) L'ocytocine

C'est une neurohormone protidique intervient chez la femelle au moment de la mise bas et lors de l'éjection de lait (Bonnes 2005).

1.4.3) Les hormones stéroïdes d'origine gonadique

Elles sont responsables des modifications des organes génitaux au cours du cycle, de la régulation de ce dernier et de la gestation :

1.4.3.1) Les œstrogènes

L'œstrogène est synthétisé et libéré surtout au cours de la phase folliculaire du cycle. La synthèse des œstrogènes nécessite chez la plupart des espèces, la présence simultanée de la thèque interne et de la granulosa des follicules. Sous l'effet de la LH, les cellules de la thèque synthétisent des androgènes à partir du cholestérol. Ces androgènes sont ensuite aromatisés en œstradiol par les cellules de granulosa sous le contrôle des hormones gonadotropes.

Les principales activités des œstrogènes concernant la sphère génitale :

- assurent le développement et le maintien des caractères sexuels primaires et secondaires, règlent le comportement sexuel de la femelle.

- déclenchent l'œstrus : provoquent la stratification et la cornification de la muqueuse vaginale et la prolifération de la muqueuse utérine.
- assurent le maintien du corps jaune.
- augmentent le péristaltisme de l'oviducte.
- participent à des FEED-BACKS négatif et positif (Vaissaire, 1977).

1.4.3.2) Les progestérones

C'est la principale hormone sécrétée par le corps jaune formé après lutéinisation des cellules folliculaires consécutive à l'ovulation (Dekkiche, 1987).

La progestérone est sécrétée essentiellement au niveau des ovaires par les cellules lutéales mais elle peut être sécrétée en faible quantité par les cellules granuleuses des follicules ovariens.

Progestérone signifie « qui permet la gestation » (Bonnes, 2005). La progestérone va assurer le début et le maintien de la gestation et sa diminution aboutit à l'avortement ou à l'accouchement (Roux, 1986).

La sécrétion de progestérone est sous le contrôle de la LH, ses effets connus sont les suivants :

- blocage des ovulations cycliques par rétroaction négative sur l'axe hypothalamo hypophysaire.
- préparation de l'utérus à l'implantation de l'embryon.

1.4.3.3) L'inhibine

L'inhibine est une hormone non stéroïdienne, d'origine gonadique, de nature glycoprotéine. Chez la femelle l'inhibine est synthétisée par les cellules de granulosa, une partie s'accumule dans le liquide folliculaire, l'autre est sécrétée dans le plasma. (Rotten, 2001)

La sécrétion d'inhibine augmente pendant la phase de croissance finale du follicule pré ovulatoire. Dans le follicule à maturité, la production d'inhibine devient progressivement dépendante de la stimulation directe par la LH. L'inhibine avec l'œstradiol est l'un des facteurs importants régulant de façon négative la sécrétion de FSH chez la femelle. (Humblot, 1990).

1.4.4) Les facteurs utérins (prostaglandine)

Nous y associerons la lutéolysine, substance élaborée par l'utérus, et qui ne serait autre qu'une prostaglandine F 2 alpha, qui assure la régression du corps jaune dans certains espèces et participe ainsi à la régulation du cycle œstral (Deriveaux et Ectors, 1980)

1.4.4.1) La prostaglandine (PGF2 alpha)

Elle est synthétisée à partir d'acide arachidonique, au niveau de nombreuses cellules sécrétrices. La libération est contrôlée par l'ocytocine d'origine lutéale. En effet l'ocytocine favorise la production de PGF2 alpha (Humblot, 1990). Elle est sécrétée par l'utérus en réponse aux pulses d'œstradiol provenant de l'ovaire. La prostaglandine est responsable de la disparition du corps jaune à fin du cycle, si la femelle n'est pas gestante (Baril, 1993). La PgF2 alpha par sa double action lutéolytique (lyse de corps jaune) et musculotrope, permet le contrôle du cycle (maîtrise), de la gestation (avortement) et des parturitions (inductions) (Fontaine et Cadore, 1995).

1.4.5) La Mélatonine

La mélatonine est une substance naturellement présente dans l'organisme de tous les mammifères et presque tous les vertébrés. Elle est synthétisée principalement dans la glande pinéale, à partir du tryptophane et de la sérotonine, sous l'effet d'enzyme dont l'activité est commandée par la perception jour/nuit. Synthétisée et sécrétée uniquement pendant la période nocturne, elle présente des concentrations dans le sang périphérique multipliées au moins par 50 à l'occasion du passage lumière/obscurité (Chemineau, 1996).

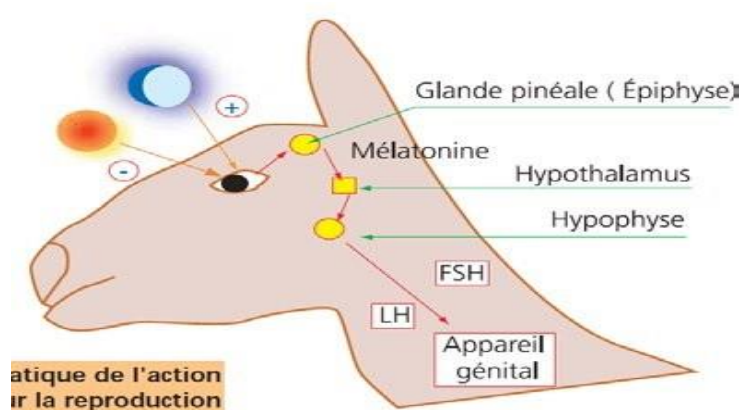


Figure 8 : Représentation schématique de l'action du photopériodisme sur la reproduction
(Brice, 2003)

1.5) Régulation hormonale

Contrairement au mâle, le comportement sexuel de la femelle est spécifiquement hormono-dépendant ; la sécrétion et l'action des hormones sont nécessaires pour le déclenchement et l'expression de l'œstrus.

Le cycle sexuel est régulé par un ensemble de mécanismes hormonaux faisant intervenir des hormones hypothalamo-hypophysaires (Gonadolibérine : GnRH ; Gonadotropines : FSH et LH) et des hormones stéroïdiennes (œstradiol, progestérone).

Pendant la phase lutéale, la LH est libérée sous forme de décharges pulsatiles de faible amplitude. La progestérone exerce un rôle rétroactif négatif dans la régulation de la LH au cours du cycle. Cependant les quantités circulantes doivent être suffisantes pour exercer un rétrocontrôle efficace (Chemineau et al. 1988). Aux alentours des jours 16-17 du cycle, les prostaglandines d'origine utérine, acheminées par contre-courant de la veine utéro-ovarienne à l'artère ovarique provoquent la lutéolyse (Horton et Polyser, 1976 ; McCracken et al, 1999). La brusque diminution de la progestérone entraîne une forte augmentation de la fréquence et de l'amplitude des décharges de LH (Mori et Kano, 1984). L'augmentation de l'activité gonadotrope provoque une stimulation de la croissance des follicules de diamètre supérieur à 1mm (Akusu et al, 1986) et de leur activité stéroïdogène (Kanai et Ishikawa, 1988). Ils sécrètent alors l'œstradiol en quantités croissantes (Mori et Kano, 1984). Le niveau croissant et élevé d'œstradiol déclenche alors le comportement d'œstrus. Chez la chèvre contrairement à la brebis, l'œstradiol seul est suffisant pour induire le comportement d'œstrus (Sutherland et Lindsay, 1991). Ceci explique qu'au contraire de la brebis, la saison sexuelle des chèvres commence souvent par un comportement d'œstrus sans ovulation préalable, voire même par un œstrus sans ovulation (Chemineau et al, 1992). L'élévation d'œstradiol dans la circulation générale induit également par rétroaction positive (Dial et al. 1985) une décharge massive de LH par l'hypophyse : c'est le pic pré ovulatoire. Il dure de 8 à 10 heures et son niveau dépasse 50ng/ml. Le maximum du pic est atteint 3 heures après le maximum d'œstradiol et 10 à 15 heures après le début de l'œstrus (Chemineau et al. 1982; Mori et Kano, 1984). La FSH est également libérée massivement en même temps que la LH et pour la même durée. La décharge préovulatoire de gonadotropines provoque la lutéinisation du follicule et l'arrêt de la sécrétion d'œstradiol. Les mécanismes de transformation des cellules folliculaires conduisent alors à l'ovulation qui se produit environ 20 heures après le pic pré- ovulatoire de LH (Gonzalez-Stagnaro et al. 1984). Le follicule se transforme alors en corps jaune et se met à sécréter la progestérone en partie au moins sous l'influence de la LH dont l'activité pulsatile est élevée (4 à 7 pulses en 8 heures)

jusqu'au jour 7 du cycle où la fréquence se stabilise aux environs de 1,5 pulses en 8 heures (Sutherland et al. 1987; Sutherland et Lindsay, 1991). C'est le milieu de la phase lutéale, un nouveau cycle commence. La saison d'anoestrus se caractérise par une absence quasi-totale de cycles (Chemineau et Delgadillo, 1994). Une faible fréquence des pulses de LH (moins de 2 pulses en 6 heures début août) et l'absence de progestérone endogène. La fréquence et l'amplitude augmentent à l'approche de la saison sexuelle : plus de 3 pulses en 6 heures à la mi-septembre (Chemineau et al. 1988).

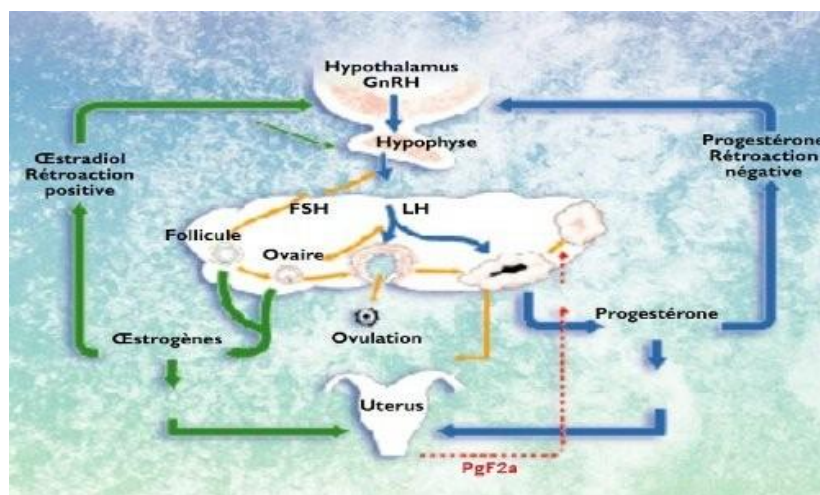


Figure 9 : Régulation hormonale du cycle sexuel (Chemineau, 1998)

Chapitre 2 : CYTOLOGIE VAGINALE

2.1) Composition de la muqueuse vaginale

2.1.1) Histologie de la muqueuse vaginale

La muqueuse vaginale est relativement mince, l'épithélium est stratifié et pavimenteux, se kératinise et se desquame au cours du cycle. Le chorion est un tissu conjonctif dense caractérisé par l'absence de glandes. Le musculéux est relativement mince de teinte rosée, elle est faite de faisceaux de cellules musculaires lisses, circulaires et longitudinales. L'adventice est constitué d'un tissu conjonctif dense pourvu de fibres élastiques (Barone, 1978)

2.1.1.1) L'épithélium

Comporte essentiellement trois couches, qui ne sont pas toujours bien séparées. Au moment de l'ovulation où l'épithélium atteint son développement maximal, on peut reconnaître :

- une couche basale, germinative
- plusieurs assises de cellules ovalaires ou polyédriques, avec ponts intercellulaires et tonofibrilles, devenant progressivement plus plates et fusiformes (sont souvent appelées cellules intermédiaires)
- une couche superficielle d'éléments pavimenteux dont le noyau évolue vers la pycnose (Chevremont, 1979)

2.1.1.2) Chorion

Présente des papilles, nombreuses et hautes, surtout à la paroi postérieure, à sa partie profonde, il devient plus lâche et possède de nombreux vaisseaux sanguins, notamment des veines et veinules disposées en plexus et à large lumière (Chevremont, 1979)

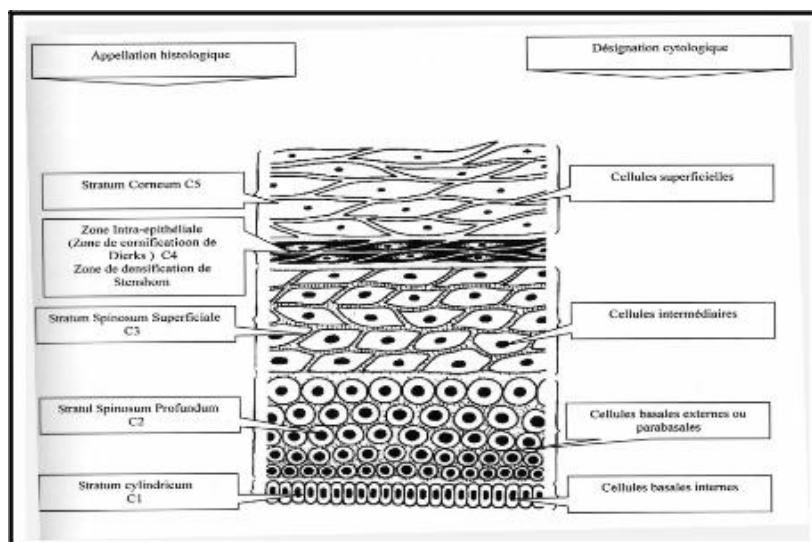


Figure 10 : muqueuse vaginale (Zebiri et Djamai; 2007)

2.1.2) Composition cellulaire de la muqueuse vaginale

La muqueuse vaginale est recouverte par un épithélium malpighien de type stratifié pavimenteux kératinisé. Il est formé de plusieurs couches ; de la plus profonde à la plus superficielle, on observe (**Figure 11**) :

- une couche de cellules basales, attachées à la lame basale, responsables de l'étape de prolifération. On ne les rencontre presque jamais sur les frottis vaginaux (Concannon et Digregorio, 1986)
- une couche de cellules parabasales
- une couche de cellules intermédiaires
- une couche de cellules superficielles.

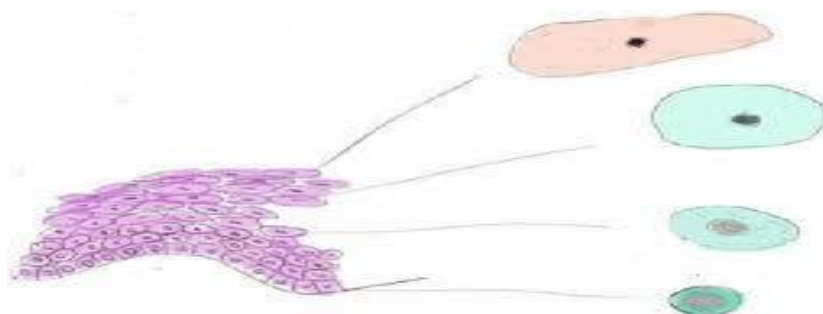


Figure 11 : différent type cellulaire de l'épithélium vaginal (Dr. Chantal KOHLER)

Les différentes couches reflètent les différentes étapes subies par les cellules épithéliales vaginales qui sont la prolifération, la différenciation et l'exfoliation (Schutte, 1967).

L'épaisseur de cet épithélium varie sous l'effet de la stimulation hormonale. L'imprégnation en œstrogènes provoque la kératinisation des cellules épithéliales.

2.1.2.1) Les cellules basales :

La cellule basale profonde ou germinative se retrouvera rarement dans les frottis à moins qu'on ait pratiqué un grattage très énergétique (profond) d'une muqueuse atrophiée ou érodée (Concannon et Digregorio, 1986).

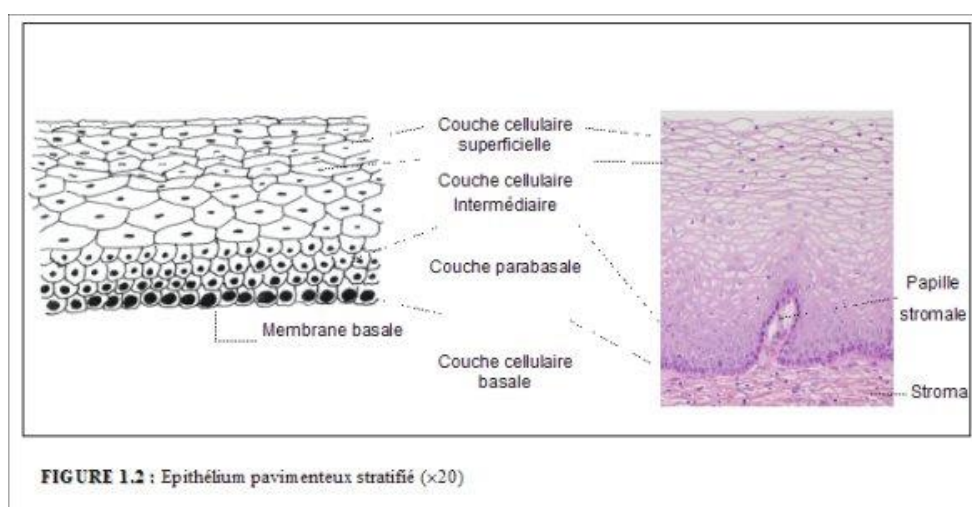


Figure 12 : épithélium avec cellule parabasale (Sellors et Sankaranarayanan 2003)

2.1.2.2) Les cellules parabasales

Ce sont les cellules les plus profondes de l'épithélium vaginal habituellement visualisées sur un frottis vaginal. Elles sont de petite taille, environ 10 à 20 μm de diamètre, et de forme ronde (**Figure 13**). Elles peuvent aussi présenter une forme allongée ; on parle alors de cellules en colonne.

Elles possèdent un noyau bien rond, volumineux et peu de cytoplasme. Le rapport nucléocytoplasmique est alors élevé. Le diamètre nucléaire représente plus de 45 % du diamètre cellulaire et peut atteindre 90 % de ce dernier. Ce sont des cellules basophiles c'est-à-dire qu'elles présentent une affinité pour les colorants basiques, elles apparaissent bleuâtres après coloration (Concannon et Digregorio, 1986).

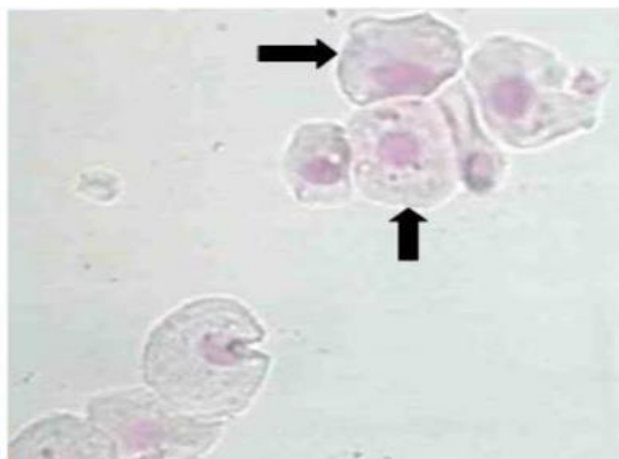


Figure 13 : Cellules parabasales (GOGNY et FIENI 2016)

2.1.2.3) Les cellules intermédiaires

On peut les classer en petites cellules intermédiaires et grandes cellules intermédiaires qui correspondent aux différentes étapes de maturation :

- les petites cellules intermédiaires ont un diamètre allant de 20 à 60 μm . Elles passent d'une forme ronde à une forme ovale. Leur noyau est toujours volumineux, mais le rapport nucléocytoplasmique est moins élevé que celui des cellules parabasales ; le diamètre nucléaire représente entre 30 à 35 % du diamètre cellulaire. Ces cellules sont basophiles.

- les grandes cellules intermédiaires représentent le stade de transition entre les petites cellules intermédiaires et les cellules superficielles.

Elles sont de taille plus importante que les petites cellules intermédiaires, entre 40 et 75 μm de diamètre et présentent des bords anguleux. Le noyau est toujours visible et de forme ronde ; le rapport nucléo-cytoplasmique est encore en baisse. Le diamètre nucléaire représente entre 15 et 35 % du diamètre cellulaire (**Figure 14**).

Les cellules peuvent apparaître basophiles, polychromatophiles (à la fois basophile et acidophile) ou acidophiles en fonction de l'état d'avancement de la kératinisation. Les cellules acidophiles présentent une affinité pour les colorants acides, elles prennent une coloration rouge-orangée lors de coloration (Concannon et Digregorio, 1986).

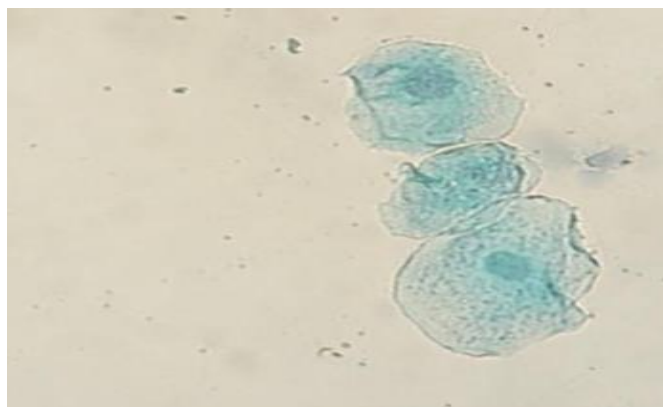


Figure 14 : cellules intermédiaires polychromatophiles (Dutey, 2016)

2.1.2.4) Les cellules superficielles

Elles sont aussi appelées cellules kératinisées. Ce sont les plus grandes cellules de l'épithélium vaginal, avec un diamètre compris entre 40 et 75 μm . Les bords de ces cellules sont très anguleux et plissés. On parle de cellules en « corn flakes » (**Figure 15**). Le noyau peut être encore présent, pycnotique ou absent et représente moins de 15 % du diamètre cellulaire. Les cellules anucléées sont aussi appelées squames. Les cellules superficielles présentant un noyau sont aussi qualifiées de cellules intermédiaires superficielles. Elles représentent une forme où les œstrogènes n'ont pas eu leur effet maximal sur la muqueuse vaginale (Feldman et Nelson, 2004).

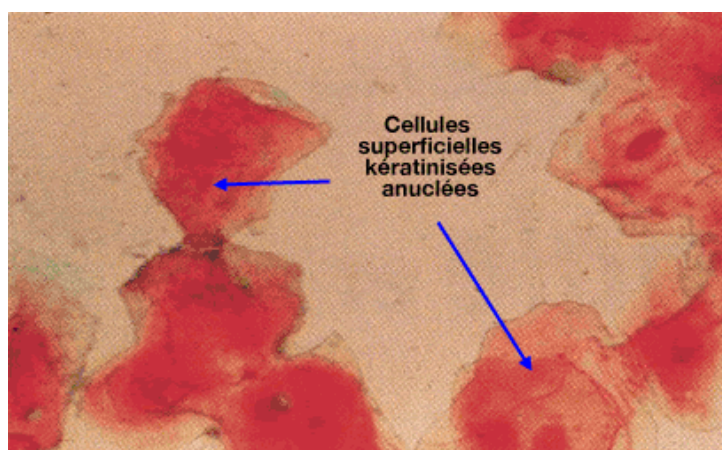


Figure 15 : cellules superficielles sous microscope optique (DUMON 2009)

2.1.2.5) Les cellules metœstrales

Ce sont de grandes cellules intermédiaires présentant un ou plusieurs granulocytes neutrophiles dans leur cytoplasme (**Figure 16**). Ces cellules sont observées lors du metœstrus précoce. Dans de rares cas, elles sont observées lors du pro-œstrus précoce (Feldman et Nelson, 2004). Ces cellules reflètent les propriétés de phagocytose de l'épithélium vaginal, les polynucléaires neutrophiles sont généralement rencontrés lors du metoestrus (Johnston et al. 2001).

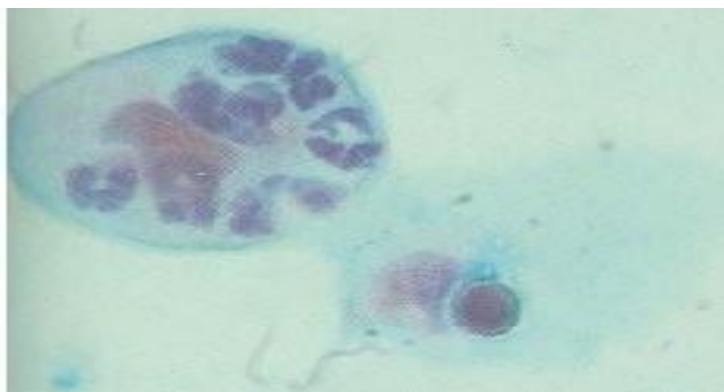


Figure 16 : cellule metoestral (Mialot, 1984)

2.1.2.6) Les cellules spumeuses ou « foamcells »

Ce sont des cellules parabasales ou intermédiaires présentant des vacuoles cytoplasmiques (**Figure 17**). Les cellules spumeuses peuvent être observées lors du metœstrus ou de l'anœstrus (Johnston et al, 2001). Leur signification est inconnue.

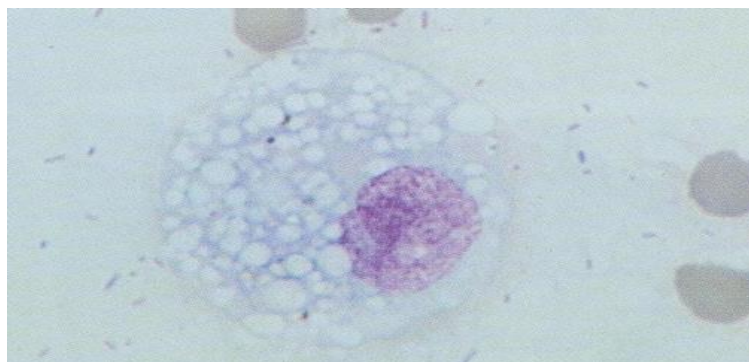


Figure 17 : cellule spumeuse colorée au May-Grünwald-Giemsa au grossissement 1000 (Johnston *et al*, 2001)

2.1.2.7) Les cellules superficielles contenant des corps cytoplasmiques

Ces cellules contiennent des inclusions cytoplasmiques sombres (**Figure 18**). Elles sont souvent observées sur des frottis vaginaux d'œstrus. Leur source et leur signification sont inconnues. Les bactéries sont distinguables des inclusions cytoplasmiques par leur taille et leur position, les bactéries sont de plus petite taille et elles sont localisées en position extracellulaire (Johnston et al. 2001).

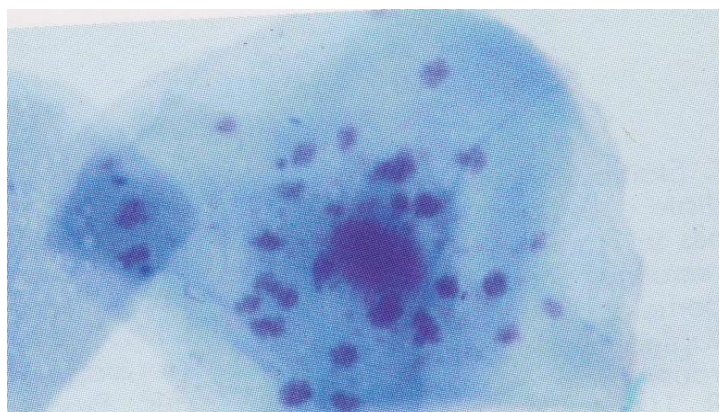


Figure 18 : cellule superficielle présentant des corps cytoplasmiques colorée au May-Grünwald- Giemsa au grossissement 1000 (Johnston *et al.*, 2001)

2.1.2.8) Les cellules de la fosse clitoridienne

Ce sont des cellules kératinisées. Elles sont observées lorsque le prélèvement a été effectué à tort dans la fosse clitoridienne. Elles peuvent être confondues avec des cellules superficielles. En effet, ces deux types cellulaires possèdent la même affinité tinctoriale. Lors de coloration avec la méthode May Grünwald Giemsa, elles apparaissent bleu violet foncées (Johnston et al. 2001); elles sont rouge orangé avec la coloration de Harris Shorr. Cependant, leur forme allongée permet de les reconnaître (**Figure 19**)



Figure 19 : cellules clitoridiennes colorée au May-Grünwald-Giemsa au grossissement 400 (Johnston *et al.*, 2001)

2.2) Modifications cytologiques provoquées par des hormones

Les différents états hormonaux de la vie génitale se reflètent dans l'aspect des frottis vaginaux ou sur coupes histologiques (Marsan et Lecapon, 1972).

Les œstrogènes provoquent la prolifération et la maturation de l'épithélium qui se caractérise par l'apparition de cellules superficielles isolées, éosinophiles à noyau pycnotique (Teter, 1972 ; schneider et al. 1977)

La progestérone lors de son administration sur une muqueuse vaginale atrophique provoque l'apparition de placardes de cellules cyanophiles intermédiaires riches en glycogène.

La progestérone possède donc une action proliférative et favorise la desquamation intense au stade de cellules intermédiaires, la présence des cellules naviculaires est constante.

La différence essentielle avec l'action des œstrogènes est la desquamation précoce des cellules au stade intermédiaire avant qu'elles n'atteignent leur stade ultime de maturation (Gompel 1982)

2.3) Les variations cytologiques au cours du cycle œstral

L'épithélium vaginal est formé de cellules parabasales, intermédiaires et superficielles il est hormono – dépendant et par conséquent soumis à des variations cycliques.

Des différentes études dont (Achour, 2015) ont montré des changements cytologiques de l'appareil génital de la chèvre pendant le cycle œstral, les rapports entre exfoliation des cellules vaginales et les sécrétions hormonales du cycle ovarien sont bien apparentes chez cette espèce (Perez et al 1999)

Ce modèle d'exfoliation des cellules vaginales a pu être employé pour déterminer le statut du cycle œstral :

- les cellules superficielles semblent être associées au pro- œstrus et l'œstrus.
- les cellules intermédiaires et parabasales sont présentes en plus grande quantités pendant la phase lutéale lorsque c'est la progestérone qui prédomine
- les cellules exfoliées (superficielles) sont le résultat de l'augmentation d'œstrogène périphérique qui cause la maturation des cellules vaginales et l'épaississement de la muqueuse, comme la couche extérieure placée plus loin de l'approvisionnement

vasculaire, il y a kératinisation des cellules qui se détachent facilement de la muqueuse vaginale (Perez et al. 1999)

Le vagin a une apparence intérieure qui change en fonction du stade du cycle sexuel. Lorsqu'une femelle est en chaleur, le vagin contient un fluide plus ou moins visqueux, sécrété par le col de l'utérus, et sa muqueuse prend une coloration rougeâtre, causée par l'augmentation de l'irrigation sanguine. Les femelles dont le vagin est plutôt sec et de couleur pâle ne sont probablement pas en chaleur (Gastonguab, 2004).

2.3.1) Cytologie de la muqueuse vaginale au cours du cycle œstral

Les frottis ne présentent que des éléments de type malpighien, donc on les retrouve seulement en fonction des étapes du cycle œstral (Thibault et Levasseur, 1991).

2.3.1.1) Phase folliculaire ou oestrogénique

2.3.1.1.1) Le proestrus

Le frottis est constitué par des placards de cellules cyanophiles intermédiaires et superficielles à noyaux relativement volumineux. L'éosinophilie et la pycnose d'abord basses s'élèvent progressivement (30% pour l'éosinophile, 50 à 60% pour la pycnose). Les leucocytes et histiocytes abondants au début deviennent rares. Les hématies disparaissent et le mucus est peu abondant (Pundel, 1952).

Les cellules parabasales disparaissent au profit des cellules intermédiaires basophiles et une coloration acidophile commence à apparaître signant un début de kératinisation. Cependant, les parabasales peuvent persister nombreuses les deux premiers jours pour disparaître ensuite (Malandain et Fontbonne, 2006). Le nombre des hématies s'élève, et on peut le voir sur le frottis avant le début des écoulements (Malandain et Fontbonne, 2006).

Les premiers effets de l'élévation sérique en estrogènes sur le tractus génital sont visualisés (Feldman et Nelson 1996). Le frottis est riche en cellules. La kératinisation cellulaire débute. La proportion en cellules parabasales et petites intermédiaires diminue progressivement, au profit de celle en cellules superficielles nucléées et anucléées (Feldman et Nelson, 1996 : Johnston et al. 2001). La proportion en cellules parabasales par rapport au nombre total de cellules vaginales est de 5 à 30% en début de proestrus ; elle passe à moins de 5% quatre à cinq jours avant le pic de LH (Johnston et al. 2001). Il y a une disparition des polynucléaires neutrophiles. En effet l'épaississement brutal de la muqueuse vaginale empêche la diapédèse des neutrophiles. Ils ne seront plus visualisables jusqu'au metoestrus (Feldman et Nelson, 1996)

En fin de proœstrus, le frottis devient de moins en moins sale et riche en cellules. On n'observe pratiquement que des cellules superficielles acidophiles, à contours anguleux et à noyaux pycnotiques ou même anucléés qui ne sont pas encore bien groupées en amas. Les hématies sont nombreuses, les leucocytes rares et les bactéries abondantes (Eilts, 2007).

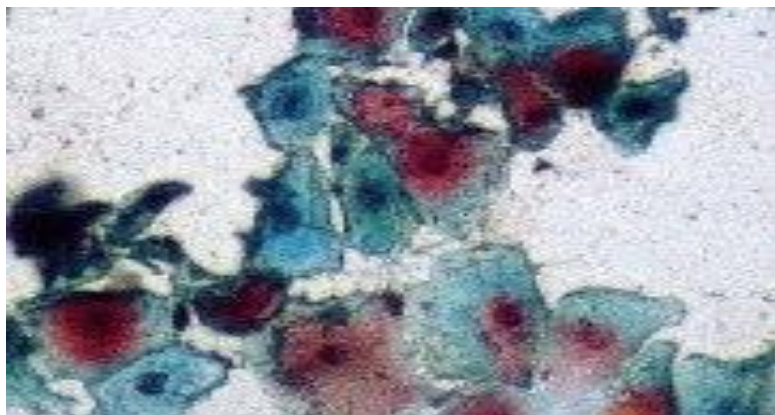


Figure 20 : frottis vaginal en période de pro œstrus (Bouricha ,2003)

2.3.1.1.2) L'œstrus

Le pourcentage des cellules superficielles isolées augmente par rapport aux placards superficiels et intermédiaires. Les cellules éosinophiles deviennent nombreuses « 30 à 50 % », la pycnose s'élève pour atteindre 40 à 80 %, et les leucocytes confèrent aux frottis un aspect "propre" (Pundel, 1952).

Généralement pendant l'œstrus, le pourcentage en cellules superficielles n'est jamais inférieur à 60% et est compris entre 80 et 100% (Feldman et Nelson, 1996)

Beaucoup d'aspects atypiques sont rapportés (Fontbonne, 1996). Pour des raisons non encore élucidées, les cellules superficielles peuvent demeurer nucléées tout au long de l'œstrus, non regroupées en amas et à moins de 60% même en période optimale ; avec de nombreuses cellules intermédiaires encore visibles. Ceci ne semble pas être associé à une baisse de fertilité (Fontbonne, 1996 ; Baker et Lumsden, 2001).

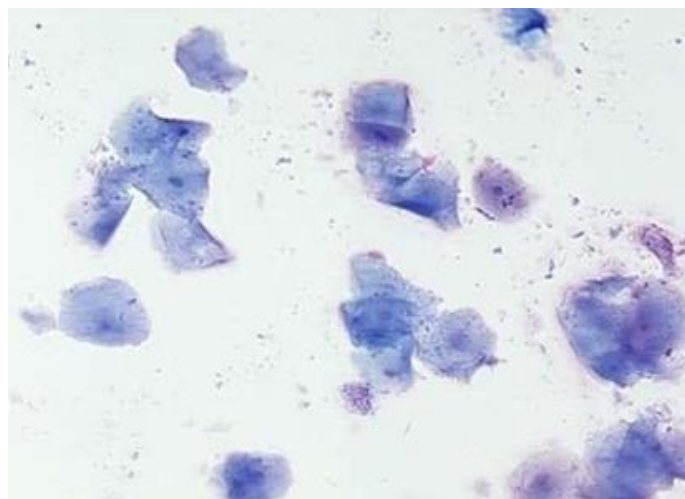


Figure 21 : frottis vaginale en période d'œstrus (BOWEN, 2003)

2.3.1.2) Phase lutéale ou progestéronique

2.3.1.2.1) Le metoestrus

Les cellules superficielles éosinophiles à noyaux pycnotiques atteignent leur taux le plus élevé et constituent la majorité des éléments cellulaires. (Compel, 1982).

Cette phase du cycle est marquée, dès son premier jour, par des changements cytologiques brutaux qui sont corrélés avec le retour, un à deux jours auparavant, de la concentration en œstrogènes à des valeurs basales (Holst et Phemister, 1974 Concannon et Digregorio, 1987 ; Feldman et Nelson, 1996 ; Johnston et al. 2001).

Le passage au metœstrus est caractérisé par un changement brutal des rapports quantitatifs des types de cellules épithéliales signalés, accompagné de l'apparition de polynucléaires neutrophiles (Baker et Lumsden, 2001).

Le frottis est riche en cellules (Feldman et Nelson, 1996). La survenue du metoestrus cytologique correspond au jour où le pourcentage en cellules kératinisées diminue d'au moins 20%. Le premier jour cette chute est souvent supérieure à 50%. De façon corollaire, le nombre de cellules des couches profondes de l'épithélium augmente et représentent au moins plus de 10 % (et souvent plus de 50%) des cellules du frottis (Holst et Phemister, 1974).

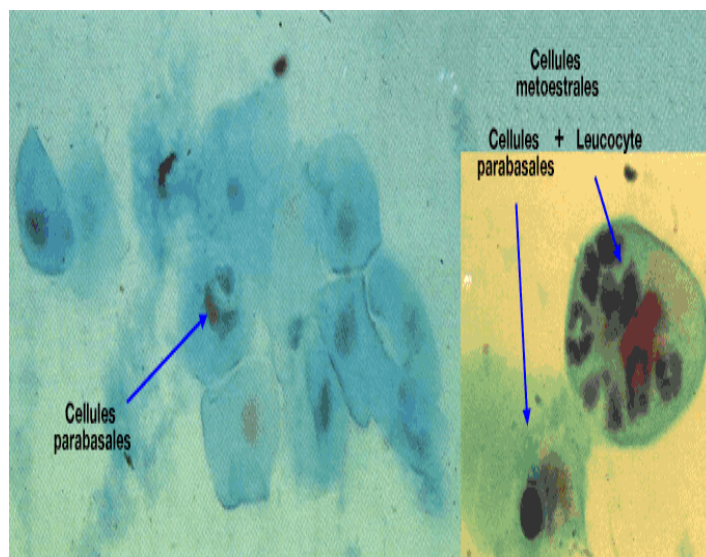


Figure 22 : frottis vaginal en période de metoestrus (Dumon, 2009)

2.3.1.2.2) Le dioestrus :

On assiste à une diminution du nombre de cellules superficielles éosinophiles à noyaux pycnotiques et réapparition des placards de cellules cyanophiles superficielles et intermédiaires. L'éosinophilie et la pycnose régressent, quelques leucocytes et le mucus réapparaissent. Dans les placards de cellules intermédiaires, on note la présence d'éléments de types naviculaires « cellules riches en glycogène » (Compel, 1982)

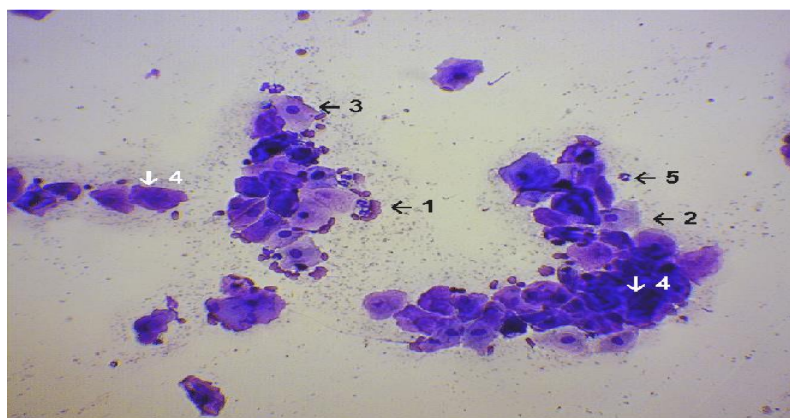


Figure 23 : frottis vaginal en période de pro œstrus (Antonov, 2016)

- 1) Globule rouge
- 2) Petit cellule intermédiaire
- 3) Grande cellule intermédiaire
- 4) Cellule squameuse (superficielle)

3.3.1.3) L'anoestrus

C'est la phase de repos sexuel. Les hormones sexuelles circulent à leur niveau le plus bas dans le sang, la plus part des cellules existe dans cette période, ce sont les cellules basales et parabasales (Dumsay, 2001).

Le frottis d'anoestrus (**figure 24**) est classiquement pauvre en cellules. La tendance tinctoriale est basophile. On note la présence de quelques rares cellules parabasales, parfois accolées par un de leurs côtés, donnant l'aspect de cellules en colonne. Les polynucléaires sont rares et les hématies absentes (Baker et Lumsden, 2001 ; Malandain et Fontbonne, 2006)

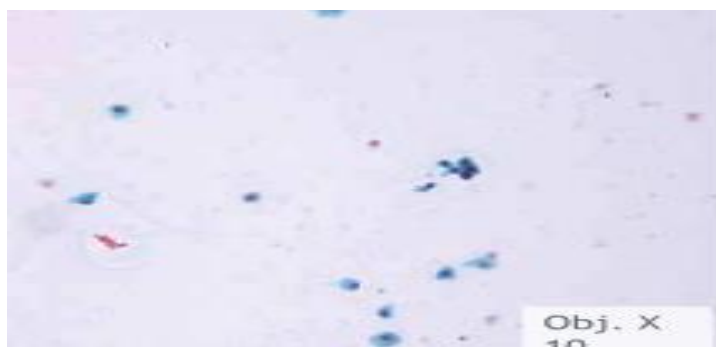


Figure 24 : frottis vaginale en période d'anoestrus (Professeur Sylvie CHASTANT ; Docteur Patricia RONSIN)

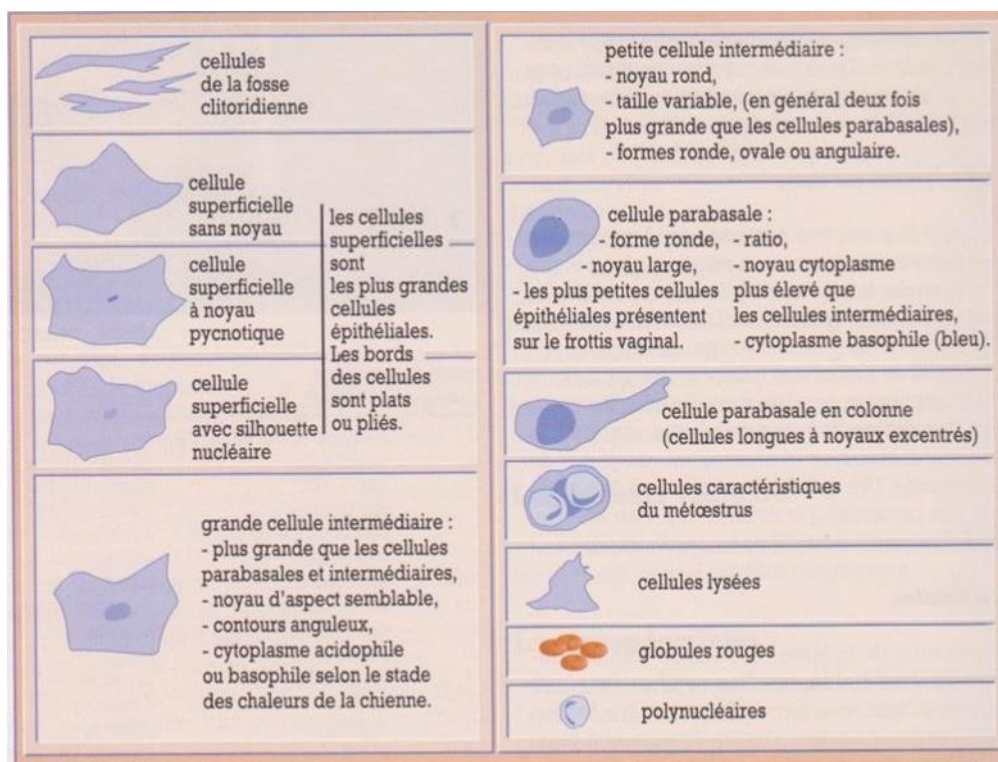


Figure 25 : les cellules de l'épithélium vaginal observables sur un frottis vaginal (Neveux, 1999)

2.4) Les frottis vaginaux

2.4.1) Technique de réalisation

La muqueuse vaginale se renouvelle à chaque cycle œstrien. En début de phase folliculaire, la muqueuse ne comporte que quelques assises cellulaires. Par suite des divisions des cellules de la couche basale sous l'action de l'œstradiol cette muqueuse s'épaissit. Puis les assises superficielles se kératinisent. Sous l'influence de la progestérone, les divisions cessent, les cellules kératinisées desquament, les polynucléaires envahissent la lumière vaginale et les détruisent (Baker et Lumsden, 2001).

2.4.1.1) Prélèvement

Le prélèvement doit être rapide, facile. Le recueil de cellules exfoliées de la muqueuse vaginale peut se faire avec une spatule, une baguette de verre, une pipette ou un écouvillon. (Baker et Lumsden, 2001).

L'écouvillonnage est simple à réaliser néanmoins certaines précautions doivent être respectées pour éviter de biaiser l'interprétation du frottis. Les deux lèvres vulvaires sont écartées avec le pouce et l'index, et un écouvillon est introduit dans le vagin à travers la commissure dorsale de la vulve. Il est souhaitable d'utiliser un écouvillon en coton stérile à usage unique, d'une longueur d'une quinzaine de centimètres (Baker et Lumsden, 2001 ; England et Concannon, 2002).



Figure 26 : écouvillonnage chez la chèvre (Nicol, 2019)

Au départ, l'écouvillon est donc introduit presque verticalement sur la partie dorsale du vestibule afin d'éviter tout traumatisme du méat urinaire. Il est ensuite basculé horizontalement et introduit délicatement le plus profondément possible. Quelques rotations sont réalisées en appliquant une certaine pression afin de prélever les cellules de l'épithélium vaginal puis

l'écouvillon est retiré doucement des voies génitales (Neveux, 1999 ; England et Concannon, 2002)

2.4.1.2) Etalement

L'étalement sur une lame de microscope a pour but de transférer un matériel représentatif du prélèvement et non l'ensemble de ce dernier. Il doit être effectué immédiatement pour ne pas se dessécher et l'écouvillon doit être roulé sur une lame propre sans frottement pour ne pas détériorer les cellules (Neveux, 1999).

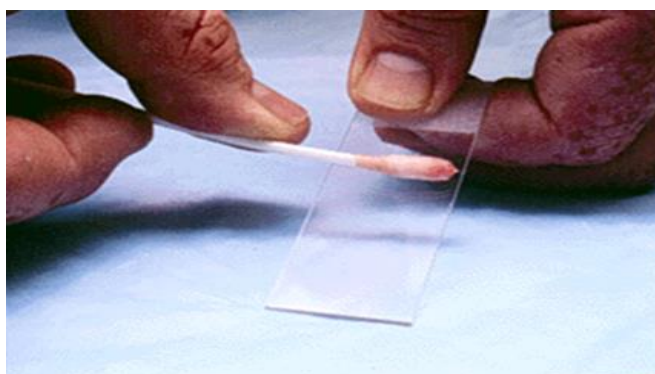


Figure 27 : Techniques d'étalement d'un frottis vaginal (EILTS, 2007)

2.4.1.3) fixation

Pour conserver durablement le prélèvement, il faut toujours procéder à une fixation qui empêche l'autolyse des cellules séparées de l'organisme vivant. Elle doit être réalisée immédiatement après l'étalement, alors que l'écouvillon est encore humide. L'assèchement peut provoquer une distorsion des cellules (Neveux, 1999).

Une fixation simple consiste également à plonger la lame dans un bain de fixateur, qui peut être une solution de méthanol à 95%, ou un mélange d'alcool- éther à 50 volumes pendant cinq minutes (Neveux, 1999).

2.4.2) Coloration du frottis

Plusieurs types de colorations sont possibles pour le frottis vaginal ; on peut en citer :

2.4.2.1) la coloration au bleu de méthylène

Le bleu de méthylène n'est presque plus utilisé à l'heure actuelle. Il permet une coloration unichrome rapide et facile. Le frottis peut être lu immédiatement après qu'on ait déposé une goutte de bleu de méthylène et une lamelle sur une lame. Cependant, il ne colore pas les

érythrocytes et ne permet pas la conservation des lames. En outre, il ne met pas en évidence les affinités tinctoriales, et colore toutes les cellules uniformément bleues, ce qui rend parfois l'interprétation difficile (Neveux, 1999).

2.4.2.2) La coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG)

La coloration de MGG ou encore de Wright est une technique unichrome, largement utilisée en clientèle vétérinaire, car les réactifs sont les mêmes pour colorer les frottis sanguins. Le MGG colore toutes les cellules vaginales quel que soit leur degré de kératinisation en bleu-violet et leur appréciation se fait par les critères morphologiques.

Il s'agit d'une méthode rapide, qui met en valeur surtout les noyaux et les cellules sanguines et met en évidence les polynucléaires plus que les autres types cellulaires, d'où son utilisation lors de suspicion d'infection génitale (Neveux, 1999). Les cellules se colorent uniformément bleu-violet, elles ne sont différenciées que par leurs seuls critères morphologiques (England et Concannon, 2002).

Le MGG est aussi utilisé en recherche clinique pour la reconnaissance des cellules tumorales circulantes, notamment avec la méthode ISET (Hofman et al. 2011) C'est aussi une coloration utilisée pour le repérage cellulaire et l'analyse simultanée des aspects morphologiques (Van Lom et al. 1992 ; Nizzoli et al. 2005).

Après le temps de fixation (3 à 5 minutes de May-Grünwald pur versé sur les frottis par appositions afin qu'ils soient entièrement couverts, ou 10 minutes de méthanol absolu en bac à coloration), on ajoute autant d'eau tamponnée qu'on aura utilisé de May-Grünwald : 2 à 3 minutes (Wright), 3 minutes (Bessis, 1972) ou 5 minutes (Koss, 1992).

Ce n'est que lorsque le May-Grünwald est dilué pour moitié avec de l'eau tamponnée qu'on obtient une coloration (Wright) précise que l'application du mélange de Romanowsky (l'actuelle May-Grünwald) donne aux hématies une teinte bleue, et que la coloration différentielle ne se développe qu'avec le rinçage à l'eau en fin de coloration (de préférence distillée).

Les hématies devenant « verdâtres, puis jaunâtres et finalement orangées ou rosées », la décoloration prenant 1 à 3 minutes et l'eau de rinçage résultant de la décoloration étant bleue (Wright)



Figure 28: colorant MGG (Amazon UK)

Après le temps de coloration au May-Grünwald dilué on doit éliminer le colorant et sans laver, passer les lames dans la solution de Giemsa (Bessis, 1972)



Figure 29 : matériel pour coloration MGG (England et Concannon 2002)



Figure 30 : lame après coloration Mechegueg (Mohand-Arezki et Benelhadj, 2017)

2.4.2.3) La coloration de Harris-Shorr

Cette coloration trichrome a été mise au point par Ephraïm Shorr en 1940. Plusieurs de ses dérivés sont disponibles sous forme de kits. C'est une coloration intéressante, car elle permet une bonne visualisation des cellules. La lecture est aisée car les cellules sont différenciées selon leurs affinités tinctoriales. Les cellules basophiles apparaissent bleues, les cellules acidophiles, rouges (Oettle et Weldhagen, 1982)

En effet, cette coloration permet d'identifier les précurseurs intra cellulaires de la kératine qui sont abondants dans les cellules épithéliales pendant la phase folliculaire de l'œstrus et qui se colorent en orange. Aussi, tous les types de cellules épithéliales vont se colorer en orange si on les laisse sécher avant de les fixer (Oettle et Weldhagen, 1982).

Cette méthode demande plusieurs solutions, et sa mise en œuvre est plus longue que les autres (environ 15 minutes), ce qui la rend moins pratique en clientèle.

De nos jours, des kits de coloration Harris-Shorr simplifiés, tel que le kit Diagnœstrus®, sont disponibles dans le commerce. Leur usage pratique et économique favorise leur utilisation en cabinet vétérinaire. En effet, ils permettent l'obtention de résultats, moins précis mais proche des résultats obtenus par le protocole de référence.



Figure 31 : Matériel pour coloration d'Harris-Schorr (Pierson et al, 1999)

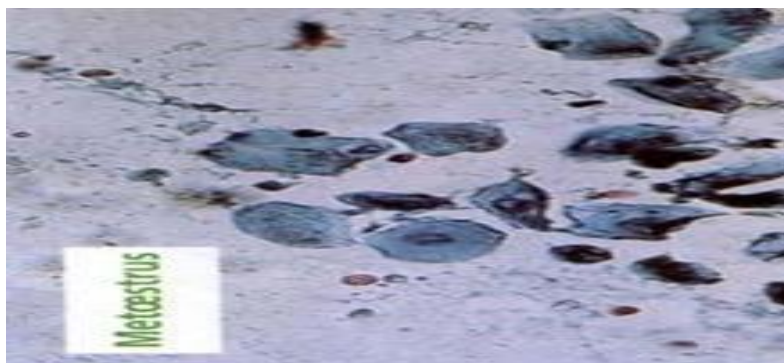


Figure 32 : Frottis vaginaux de chienne aux différentes phases du cycle œstral, colorés avec la méthode du trichrome d'Harris-Schorr (Pierson et al, 2002)

2.4.2.4) La coloration de Papanicolaou :

Cette coloration pentachrome a été décrite par George Papanicolaou en 1942. Il s'agit de la coloration standard des frottis vaginaux chez la femme (Papanicolaou, 1942). Les noyaux apparaissent bleu-violet, les cellules superficielles rose orangé, les cellules intermédiaires bleu-vert et les cellules plus profondes vert plus franc. Son intérêt est surtout pour le diagnostic cytologique des néoplasies du tractus génital chez la chienne. Cependant, le trichrome de Harris-Shorr lui est largement préféré pour la lecture tinctoriale des lames

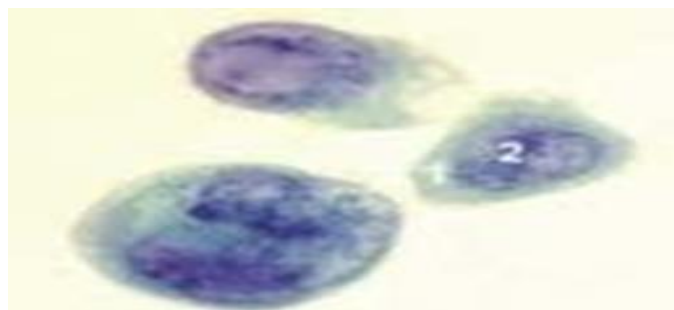


Figure 33 : frottis coloré avec la coloration de Papanicolaou (HERON, 2006)

3.5) Observation au microscope

La lecture des lames de frottis se fait à l'aide d'un microscope optique elle doit se faire d'abord à faible grossissement (x10), puis à fort grossissement (x40 ou x100).

Le faible grossissement permet d'apprécier globalement la richesse en cellules, la présence ou non de mucus, la présence ou non de leucocytes, la présence ou non de spermatozoïdes, ainsi que la répartition des cellules dispersées, isolées ou en amas).

Le fort grossissement permet l'aspect des cellules, et de déterminer plus précisément les différents types de cellules et bien les différencier. On note attentivement la taille, la place et le volume du noyau par rapport au cytoplasme. Il est primordial de réunir ces caractéristiques pour nous aider dans l'identification cellulaire.

La lecture se fait en balayant toute la lame, l'observation d'un maximum de champs sur différents points est indispensable. (Neuveux, 1999 ; Ehlers, 2000)

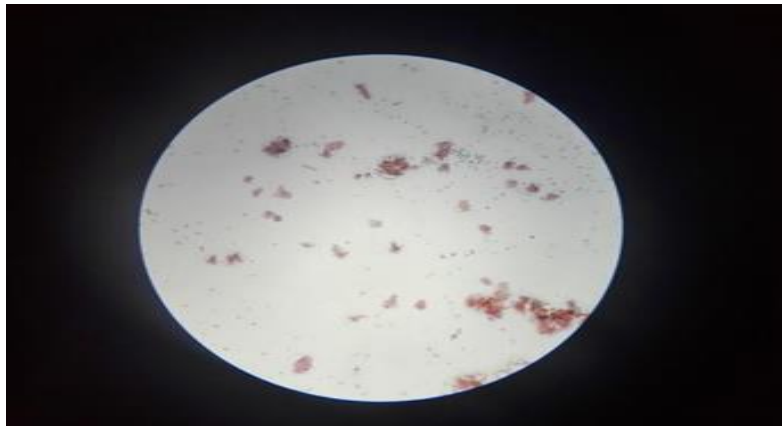


Figure 34 : Lame du frottis vaginal en Phase de proestrus (Mohand-Arezki et Benelhadj, 2017)

Chapitre 3 : DOSAGE HORMONAL DE LA PROGESTERONE SERIQUE

3.1) Généralités

Maîtriser la conduite de la reproduction dans le troupeau nécessite de connaître les différents états physiologiques des femelles, ainsi l'observation seule ne permet pas une maîtrise adéquate des paramètres de reproduction.

Pour cela l'analyse des niveaux périphériques de progestérone est un des outils permettant de mieux les préciser (Thimonier, 2000).

3.2) Variation de la progesteronémie selon l'état physiologique

La progestéronémie présente un niveau basal constant en anœstrus où les niveaux de progestérone plasmatique pendant cette période anovulatoire sont en général inférieurs à 0,5 ng/ml. Chez les femelles ovulatoires, les niveaux de progestérone sont caractérisés par une alternance de valeurs faibles pendant la période péri-ovulatoire et élevées pendant la majeure partie de la phase lutéale.

Ainsi chez une femelle non inséminée, deux prélèvements suffisent pour détecter une éventuelle cyclicité chez la chèvre (Thimonier, 2000).

Catégorie	Femelle	Intervalle entre deux prélèvements consécutifs	Nombre	Seuil P4 (0.5ng/ml)		Etat physiologique
				1	2	
Femelles non inséminées	Chèvre	8 à 11 jours	2	-	-	Anoestrus
				-	+	Cyclique
				+	-	
				+	+	

Tableau 1 : Nombre et fréquence des prélèvements nécessaires pour définir l'état physiologique d'une femelle par estimation des niveaux de progestérone serique (Thimonier, 2000).

En pro-œstrus, les follicules pré ovulatoires commencent à sécréter de la progestérone et le taux augmente ainsi relativement (Hoffmann et al, 1996).

Chez les femelles gravides, après une évolution comparable à celle observée pendant le début du cycle, les niveaux de progestérone restent élevés pendant toute la durée de la gestation (Thimonier, 2000).

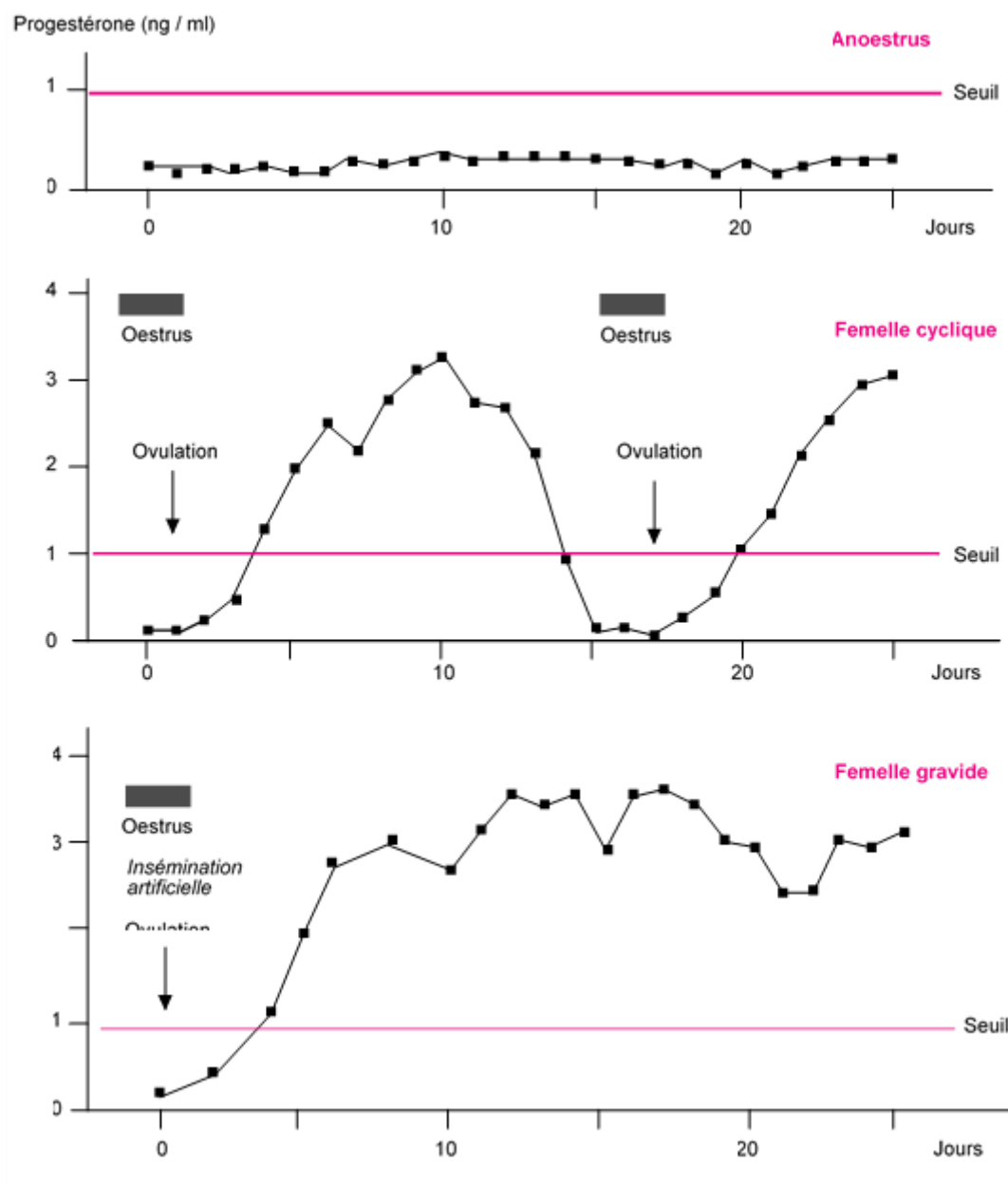


Figure 35 : Evolution des niveaux de progestérone plasmatique pendant l'anoestrus, au cours du cycle et au début de la gestation (Thimonier, 2000)

En effet, l'observation de l'évolution de la progestéronémie permet de définir une courbe type dont l'aspect est relativement constant, malgré quelques variations individuelles. La concentration plasmatique de progestérone commence à augmenter depuis des valeurs basales en concomitance avec la chute du taux sérique d'œstrogènes et du pic de LH, suite à la lutéinisation pré-ovulatoire des follicules ovariens chez la chienne(Concannon, 2002).

Moment du prélèvement	Niveau de progestérone	Femelle	Etat physiologique
Quelconque (1)	> 0,5ng/ml	Chèvre	Cyclique
	< 0,5 ng/ml	chèvre	Cyclique ou anoestrus
Un cycle après insémination	< 2ng/ml	chèvre	Non gravide
	>2ng/ml	chèvre	Gravide(2)

Tableau 2 : Niveau de progestérone plasmatique périphérique et état physiologique chez la chèvre (Thimonier, 2000).

Dans le cycle sexuel, plus précisément la phase folliculaire, une teneur maximale en progestérone d'environ 0.9 ng/ml de plasma (moyenne sur la période : 0.53 ± 0.26 ng/ml de plasma) (Tamboura, et Sawadog, 1998).

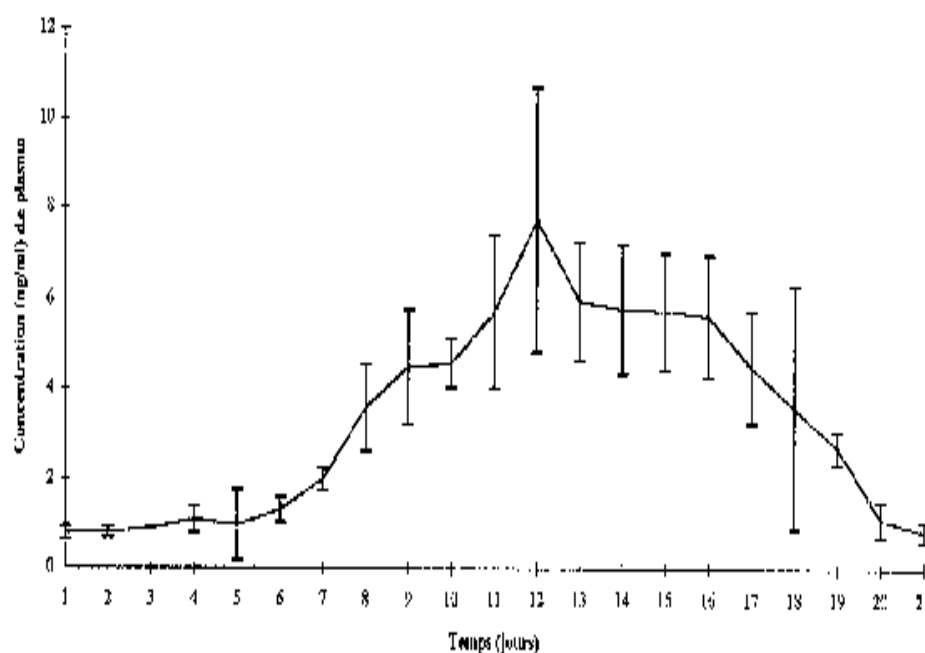


Figure 36 : concentration plasmatique moyenne de progestérone durant le cycle œstral chez la chèvre (Tamboura, Sawadog, 1998).

3.3) Techniques de dosage de la progestérone

La progestérone est une hormone stéroïde assez stable, mesurée généralement sur un matériel sanguin prélevé à un volume supérieur à 0.2 ml, sur tube sec ou hépariné. Comme les échantillons de recherche sont toujours dosés à posteriori, les échantillons se conservent bien au froid pendant 2 semaines à +4°C, et environ 1 an à -20°C (Volkman et al, 2004).

Quelle que soit la méthode employée, le principe général du dosage reste le même, il s'agit d'une compétition entre la progestérone de l'échantillon et une progestérone marquée. Le support et le système de révélation peuvent changer d'une méthode à une autre (Prelaud et al, 2002).

3.3.1) Méthodes quantitatives

Les dosages quantitatifs sont réalisés par des laboratoires spécialisés, ils ont l'avantage d'être très précis (Prelaud et al, 2002).

3.3.1.1) Méthodes radio-immunologiques

Les techniques radio-immunologiques (RIA) demeurent les techniques de référence pour de nombreuses hormones, notamment la progestérone. L'élément radioactif, le plus souvent l'iode 125 ou le tritium, émet des rayonnements quantifiés par un compteur. Le principal avantage de ces techniques est l'absence d'interférence avec le milieu du prélèvement (anticoagulants, par exemple). Le nombre d'hormones pouvant être dosées par RIA est beaucoup plus important que par les techniques froides (Prelaud et al, 2002).

Si les techniques radio-immunologiques font toujours figure de techniques de référence, leur utilisation semble peu justifiée lorsque des techniques froides fiables, sans risque pour le personnel et l'environnement, peuvent être utilisées. Dans ce contexte, de nombreux laboratoires équipés d'automates de chimiluminescence abandonnent progressivement les techniques radio-immunologiques (Fontbonne et al, 1996).

3.3.1.2) Méthodes immuno-enzymatiques

Les techniques immuno-enzymatiques (EIA), principalement l'ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) et la chimiluminescence, présentent l'avantage d'éviter la manipulation de produits radio-actifs. Diverses enzymes sont utilisées couplées à un anticorps ou un haptène. Par conséquent, ces techniques ne sont pas utilisables avec tous les milieux de prélèvement.

A l'heure actuelle, les techniques d'immuno-chimiluminescence sont les plus répandues sur les automates de dosages hormonaux. Elles font appel à des substrats qui, transformés, émettent durant un court laps de temps de la lumière. La spécificité de ces techniques est importante parce qu'il n'existe ni parasite ni diffusion (Buff, 2001).

3.3.2) Méthodes semi quantitatives

Le dosage semi quantitatif par méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) repose le principe de la compétition entre la progestérone plasmatique et la progestérone liée à une enzyme qui est souvent la peroxydase formant ainsi un complexe progestérone-enzyme.

La lecture du résultat se fait par appréciation visuelle colorimétrique des variations de concentration de l'échantillon par rapport à un ou deux témoins. La valeur exacte n'est pas connue, mais ces kits sont pratiques, ils permettent généralement la réalisation de suivi des chaleurs dans de bonnes conditions (Buff, 2001).

Ce test comprend en général 4 classes. La classe 1 correspond au taux basal entre 0 et 1ng/ml et à la couleur la plus foncée, les classes 2 et 3 respectivement à des taux de 1 à 2.5ng/ml et de 2.5 à 8ng/ml. A l'inverse, la classe 4 correspond à un taux élevé supérieur à 8ng/ml et est révélée par une couleur blanche (Prelaud et al, 2002).

3.4) Corrélation de la cytologie avec dosage hormonal

La stratégie d'interprétation d'un dosage de progestérone varie selon les espèces. Chez les espèces à ovulation spontanée et qui sont le cas général, la progestérone augmente après l'ovulation et sa chute en fin de phase lutéale signe l'entrée en phase folliculaire au cours de laquelle a lieu l'ovulation. (Emmeline, 2010). Les populations du frottis vaginal sont moins homogènes et ne permettent pas d'identifier aussi clairement les stades du cycle ; seule varie la proportion des différents types cellulaires, le frottis n'a donc qu'une valeur indicative de l'activité ovarienne (Driancourt et Levasseur, 2001). Chez la chèvre, de nombreux leucocytes avec un noyau compact apparaissent à l'ovulation (Rawlings et al, 2007).

Types de cellules	Début d'œstrus	Fin d'œstrus (ovulation)	Début metœstrus
Petites cellules intermédiaires	-	-	+
Grandes cellules intermédiaires	+++	+++	-
Cellules anucléées kératinisées	++++	+++	+/-
Neutrophiles (leucocytes)	-	+	+++
Progestérone	<0.9 ng/ml	<0.9 ng/ml	>1 ng/ml

Tableau 3 : Evolution de la composition cellulaire d'un frottis vaginal autour de l'ovulation
(Noakes, 2001 ; Tamboura et Sawadog, 1998)

Partie expérimentale

Chapitre 4 : Suivi de la saisonnalité de la chèvre par dosage de la progestérone sérique

4.1) Objectif

Cette expérimentation a pour but, à travers un suivi hormonal par dosage de la progésteronémie, de suivre la fonction sexuelle chez les caprins de race Saanen dans la région de Tizi Ouzou, afin de vérifier l'existence d'éventuelles activités sexuelles en période normal d'anoestrus saisonnier et de confirmer les résultats obtenus par cytologie vaginale et l'existence d'une corrélation entre les 2 examens.

4.2) Matériels et méthodes

4.2.1) Région d'étude

L'étude a été menée dans la wilaya de Tizi Ouzou dans la commune de Tizi Rached, village de Taboukert.

La Wilaya de Tizi Ouzou possède un climat tempéré méditerranéen chaud avec été sec selon la classification de Köppen-Geiger. Sur l'année, la température moyenne de la Wilaya de Tizi Ouzou est de 18.5°C et les précipitations sont en moyennes de 720.1 mm.



Figure 37 : Carte géographique de la région d'étude la Wilaya de Tizi Ouzou, commune de Tizi Rached village Taboukert (2020).

L'élevage où l'étude a été menée est de type semi extensif où l'effectif est composé de 40 adultes (3 mâles et 37 femelles), et 34 produits dont 19 jeunes issus de la saison sexuelle précédente (2018/2019) et 15 autres durant la saison sexuelle actuelle (2019/2020).

La conduite de la reproduction est basée sur une monte naturelle, il pratique la monte (avec un ratio de 1 mâle pour 13 femelle) en saison sexuelle seulement (septembre – février). Il n'a jamais fait de synchronisation de chaleurs.

Les mâles et les femelles sont relâchés dans l'air de stabulation où l'accouplement a lieu, il est à noter que le poids de l'animal n'est pas pris en compte pour la mise en reproduction des chevrettes mais se fait généralement vers 8 mois.

Les chèvres présentent un taux de prolificité estimé à 120%. Certaines chèvres ont manifestées des signes de chaleurs pendant la période de repos sexuel (Avril-Aout).

4.2.2) Matériels

Dosage hormonal

- Gants, désinfectant, coton : Pour protection personnelle et animal.
- Tubes vacutainer secs, aiguilles et portes aiguilles : Pour la récolte rapide du sang.



Figure 38 : Tubes secs vacutainer sous vide



Figure 39 : aiguilles double sens

(Photos personnelles, 2020)

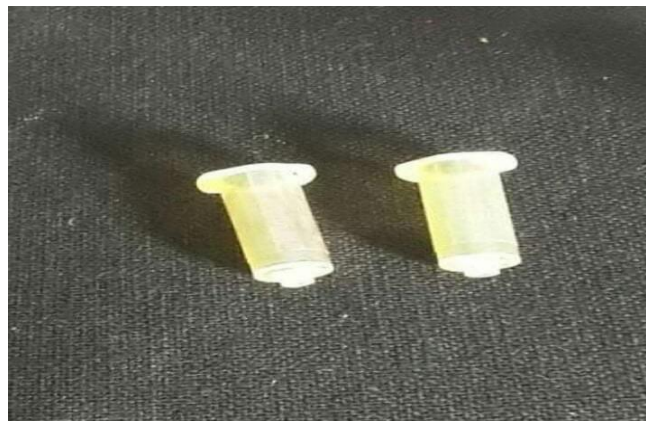


Figure 40 : portes aiguilles (photo personnelle, 2020).

Centrifugeuse : Pour la séparation du sérum des éléments figurés du sang.



Figure 41 : centrifugeuse

-Micropipette et embouts : pour la récolte du sérum



Figure 42 : Micropipette et embouts (Photos personnelles 2020)

-Eppendorfs étiquetés



Figure 43 : éppeindorfs étiquetées (photo personnelle 2020)

-Sac hermétique : pour la récolte et le transport du sérum +4°C puis le conserver a – 20° C pour le dosage ultérieur.



Figure 44 : Sac Isotherme



Figure 45 : pochettes de glace

(Photos personnelles, 2020).

-Kit A.I.A «**TOSOH AIA**» : dosage immuno-enzymatique compétitif (**ELISA de compétition**) effectué entièrement dans la cupule du réactif **AIA-PACK**.



Figure 46 : l'appareil A.I.A 360



Figure 47 : réactifs ST AIA-PACK PROG

Frottis vaginal

- désinfectant, lubrifiant : pour éviter les lésions et les infections au niveau vaginal,
- speculum vaginal : pour écarter les lèvres vulvaires et faciliter l'écouvillonnage et éviter de fausser les résultats par des cellules non vaginales (cellules clitoridienne et vulvaire),
- écouvillons stériles : pour la réalisation de prélèvements.



Figure 48 : spéculum vaginal



Figure 49 : écouvillons stériles

(Photos personnelles).

- Sérum physiologique, Coloration May Grunwald Giemsa : pour la coloration.



Figure 50-51 : Colorants May Grunwald Giemsa (photos personnelles).

-lames propres étiquetées

-microscope optique « Marque LEICA » : aux grossissements (x10, x40, x100)



Figure 52 : lames et microscope optique



Figure 53 : lames propres

(Photos personnelles)

4.2.3) Méthodes

Le travail a été fait sur 5 chèvres durant 2 périodes (même protocole pour les frottis vaginaux) :

- 13 juillet - 03 août : réalisation de 36 prélèvements de sang (36 frottis)
- 20 sept - 23 sept : réalisation de 06 prélèvements de sang (6 frottis)

La mise bas de ces chèvres lors de la saison sexuelle 2018/2019 s'est faite vers le mois de mars pour certaines chèvres, la date n'a pas été notée pour les autres.

(L'étude a été interrompue durant la deuxième période car les 05 chèvres étaient gravides)

Les prélèvements sanguins ainsi que les frottis ont été réalisés 2 fois par semaine à 3 jours d'intervalle pour le suivi adéquat du cycle sexuel au même temps que la réalisation de frottis vaginaux.

Méthode de la réalisation du prélèvement sanguin

Le travail est fait le matin au sein de l'élevage, une contention au préalable est réalisée par l'éleveur, après la réalisation des frottis vaginaux plus précisément le temps d'attente pour que la coloration soit terminée, on entame les prélèvements de sang (2-3 ml) au niveau des veines jugulaires à l'aide des tubes secs vacutainer.

Ensuite on centrifuge le sang sur place à l'aide d'une centrifugeuse à 3000 tours/min pendant 10 min pour séparer le sérum des éléments figurés de sang qui sera prélevé dans des éprouvettes à l'aide d'une micropipette et le mettre à +4° C pour le cheminement des sérums (Sac hermétique) puis les congeler immédiatement à -20°C jusqu'au moment de dosage hormonal (Volkman et al, 2004).

- Le dosage de la progestérone a été réalisé dans un laboratoire d'analyses médicales privé en région de Bejaïa (Sidi Aiche) et les résultats ont été déterminés par la technique immuno-enzymatique compétitif (ELISA de compétition) grâce l'appareil : AIA-360 (AUTOMATIZED IMMUNOASSAY ANALYZER)

La progestérone présente dans l'échantillon à tester entre en compétition avec la progestérone marquée par une enzyme pour un nombre limité de sites de fixation sur les anticorps spécifiques de la progestérone immobilisée dans les perles magnétiques.

Les perles sont ensuite lavées pour éliminer la progestérone (marquée par l'enzyme) non liée, le reste est incubé avec un substrat fluorogène, phosphate de 4-méthylumbelliféryl. La quantité de progestérone marquée par l'enzyme qui se lie aux perles est inversement proportionnelle à la concentration en progestérone dans l'échantillon testé.

Une courbe d'étalonnage est construite et les concentrations de progestérone inconnues sont calculées à l'aide de cette courbe.

Toute Progesteronémie $\geq$ 1ng/ml signifie une activité lutéale (mode d'emploi de l'appareil AIA)

Méthode de réalisation d'un frottis

Les frottis sont effectués le matin, une contention au préalable est réalisée par l'éleveur, on inspecte d'abord le comportement de la chèvre ainsi que l'appareil génital externe (sécrétions), qui peuvent nous renseigner sur le stade du cycle ou bien la présence d'éventuelles pathologies.

La réalisation des frottis vaginaux consiste en premier lieu à désinfecter la région vulvaire, puis placer le spéculum vaginal, préalablement lubrifié, de telle sorte à écarter les lèvres vulvaires. L'utilisation du spéculum évite tout contact de l'écouvillon avec la muqueuse de la fosse clitoridienne ou les lèvres vulvaires. Il n'y a également aucun risque de léser le méat urinaire.

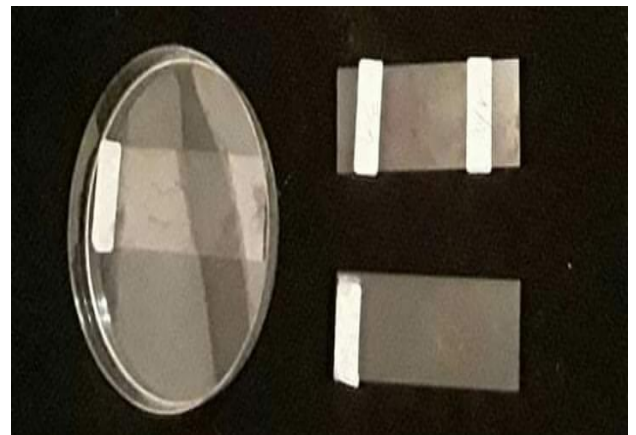
Ensuite on introduit l'écouvillon stérile à une profondeur d'environ 5-6 cm, tout en veillant à ne pas enfoncer trop l'écouvillon au risque de prélever les cellules cervicales.

Une fois l'écouvillon à l'intérieure de la cavité vaginale, on fait 2-3 rotations contre la paroi vaginale sans trop forcer (risque d'avoir des cellules basales).

Après le retrait de l'écouvillon, l'étalement sur une lame doit être effectué rapidement afin d'éviter le dessèchement du prélèvement et donc la destruction du matériel cellulaire. (Concannon, 1987). L'écouvillon est roulé sur une lame propre sans frottement pour ne pas détériorer les cellules (Johnston et al, 2001).

On pose les lames horizontalement sur un support ensuite on passe à la fixation et la coloration des lames. Le principe de la coloration MGG est basé sur 2 étapes :

- Une fixation d'1 min grâce au May Grunwald (permet de fixer les cellules et éviter leurs apoptose).
- La coloration vraie après rinçage à l'eau distillée à l'aide du colorant Giemsa en 10 min.



Figures 54-55 : lame pendant/après la coloration (lames personnelles)

En finalité, on passe à l'observation microscopique des lames (après séchage), d'abord au grossissement (x10) où on effectue un balayage de toute la lame pour voir la richesse en cellules vaginales et leurs dispositions et avoir une idée sur l'activité sexuelle de la chèvre, ainsi que la présence de mucus ou de leucocytes.

Puis on passe au grossissement (x40) et (x100) pour la distinction et le comptage de différentes populations cellulaires. Toutes les caractéristiques morphologiques des cellules (taille, noyau, cytoplasme, forme) sont primordiales pour l'identification du type cellulaire.

La lecture doit se faire impérativement en balayant toute la lame en observant un maximum de champs (Neuveux, 1999).

On compte les cellules par type : cellule superficielle, cellule intermédiaire, parabasale et metœstrale puis on exprime en pourcentage total (Gompel, 1982)

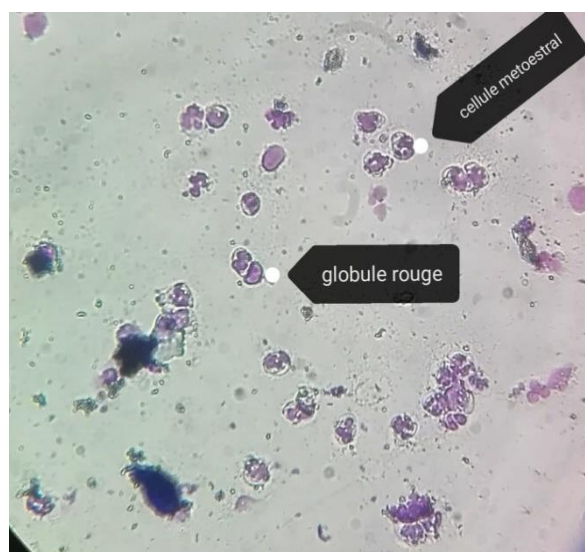
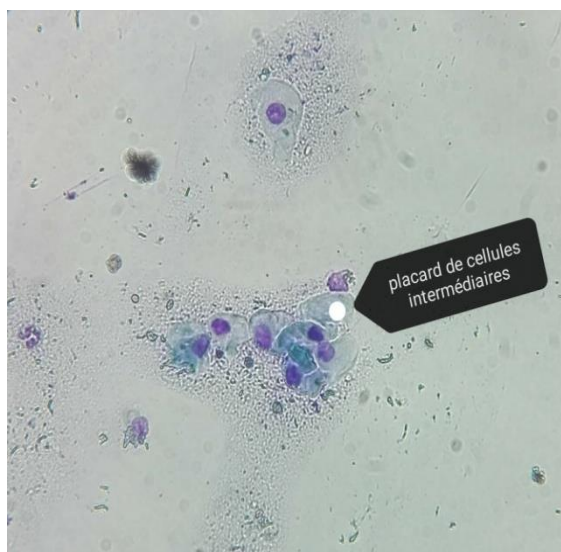


Figure 56-57 : cellule intermédiaire et cellule metœstrales observées lors du comptage
(Lames personnelles)



Figure 58 : cellules superficielles avec corps cytoplasmiques (lame personnelle 2020)

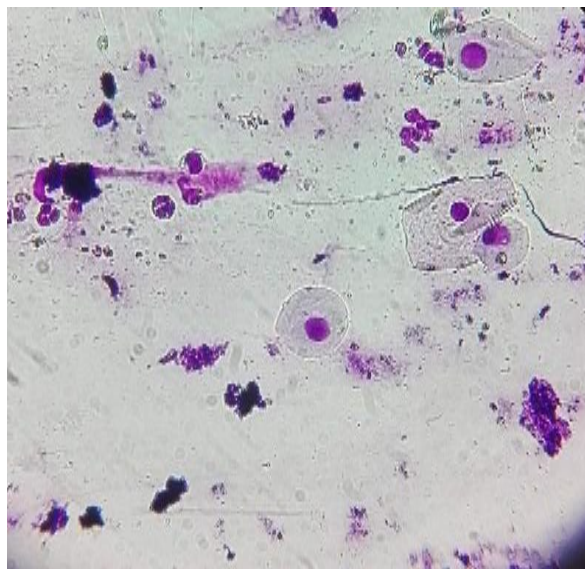


Figure 59 : frottis vaginale après ovulation
(lame personnelle 2020)

4.3) Résultats

Le seuil de la progestéronémie retenue pour la détermination de la phase lutéale est de 1 ng/ml, 0.5ng/ml pour décerner une activité sexuelle ainsi que 2 ng/ml pour une gestation (Thimonier, 2000).

4.3.1) Résultats du dosage hormonal

Chèvre 10

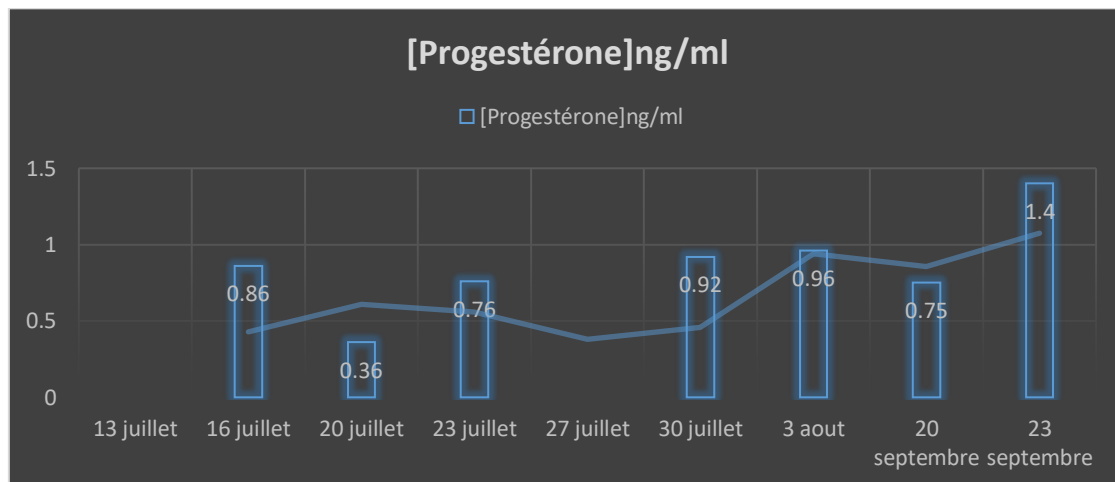


Figure 60 : concentration de la progestérone pour la chèvre 10 du 13-juil au 23 sept

L'histogramme représente la variation de la progestéronémie en fonction du temps (du 13juillet au 23 septembre),

Les résultats montrent une variation de la concentration de la progestérone de 0.86ng/ml le 16 juillet jusqu'à 0.75ng/ml le 20 septembre avec un minima de 0.36 ng/ml le 20 juillet qui pourrait correspondre à la période pré-ovulatoire et des maxima le 30 juillet et 3 août avec des concentrations supérieurs à 0.90ng/ml donc signe de cyclicité car la P4 est supérieurs à 0.5ng/ml. (Thimonier; 2000)

Par contre on remarque que la concentration ne dépasse jamais 1ng/ml pour cette période ce qui peut correspondre à une éventuelle phase folliculaire sans ovulation, jusqu'au 23 septembre où le dosage révèle une concentration de 1.4ng/ml de P4 signe de présence d'un corps jaune.

Tout en sachant que les prélèvements du 13-27 juillet ont été endommagés donc le dosage n'a pas pu se faire.

Ainsi, pour cette chèvre des signes d'activité sexuelle sont bien présents mais le suivi du cycle ne peut se faire (confirmation par cytologie).

Chèvre 16

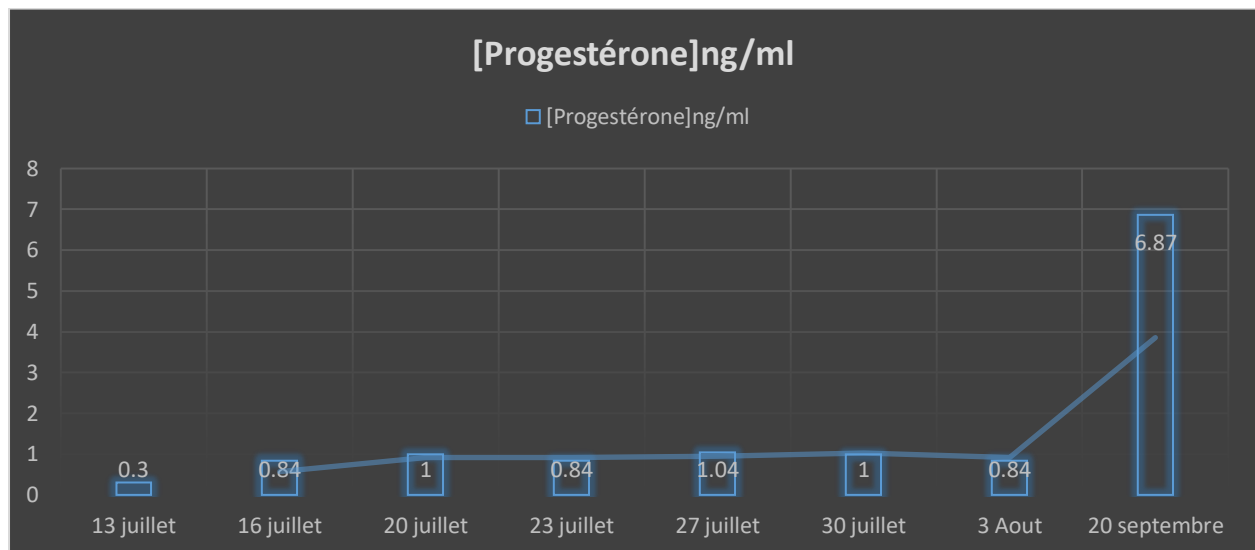


Figure 61 : La concentration de la progestérone pour la chèvre 16(13-juil au 20-sept).

Pour cette chèvre, on constate des fluctuations progestéronique allant de 0.3ng/ml (phase folliculaire) le 13 juillet, atteignant 1ng/ml (phase lutéale) le 20 juillet témoignant ainsi une cyclicité.

Le 20 septembre (2eme partie de l'étude) la chèvre présente une concentration de 6.87 ng/ml (gestation).

Selon la courbe hormonale, des cycles courts (d'environ 10 jours) ont été mis en évidence chez cette femelle avec 2 concentrations supérieures à 1ng/ml suivies d'une baisse le 23 juillet et le 3 aout de 0.84 ng/ml, ceci peut être dû à une lutéolyse précoce.

Chèvre 31

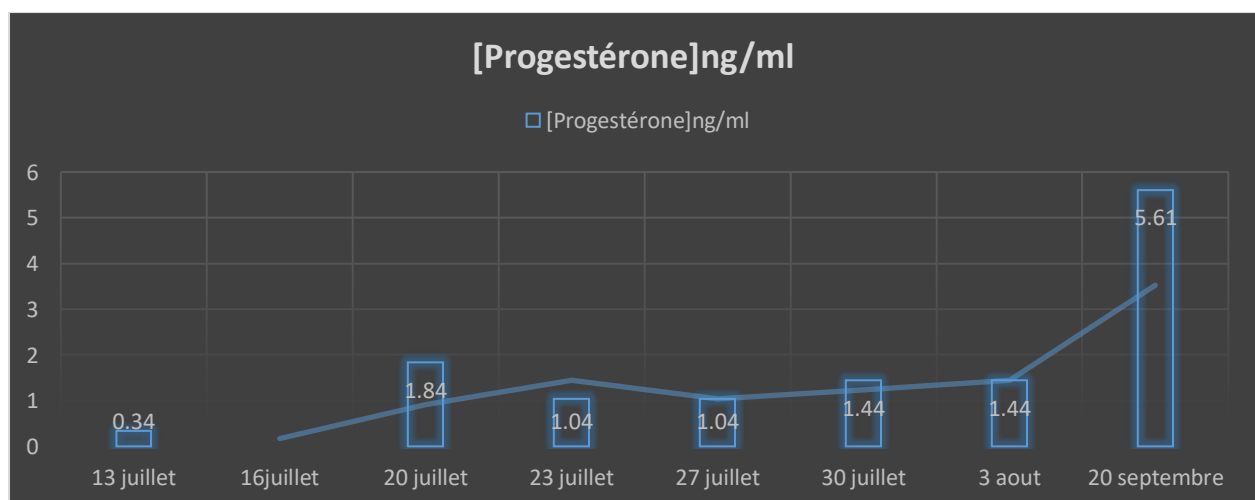


Figure 62 : La concentration de la progestérone pour la chèvre 31(13-juil au 20 sept).

Pour la chèvre 31 on peut remarquer pour la première partie de l'étude (13 juillet-3 août), à part le prélèvement du 13 juillet avec une concentration de 0.34 ng/ml (phase folliculaire), les autres varient entre 1.04 ng/ml comme une concentration minimale pour le prélèvement du 23-27 juillet et un maximum pour le prélèvement du 20 juillet avec une concentration de 1.86 ng/ml

Avec des concentrations intermédiaires à hauteur de 1.44 ng/ml le 30 juillet et 3 août.

Pareillement pour cette chèvre, on a enregistré une élévation de la P4 (5,61 ng/ml) témoignant ainsi un état gestationnel.

Le prélèvement du 16 juillet a été endommagé néanmoins une cyclicité certaine est détectée avec au début une concentration basse de 0.34 ng/ml (phase folliculaire) qui augmente jusqu'à 1.84ng/ml signalant le passage d'une phase folliculaire à une phase lutéale puis redescend à 1.04 ng/ml où elle se stabilise puis ré-augmente à 1.44 ng/ml ceci peut être dû à une phase folliculaire entre le 23-27 juillet (confirmée par cytologie) ou bien une ovulation silencieuse.

Chèvre 34

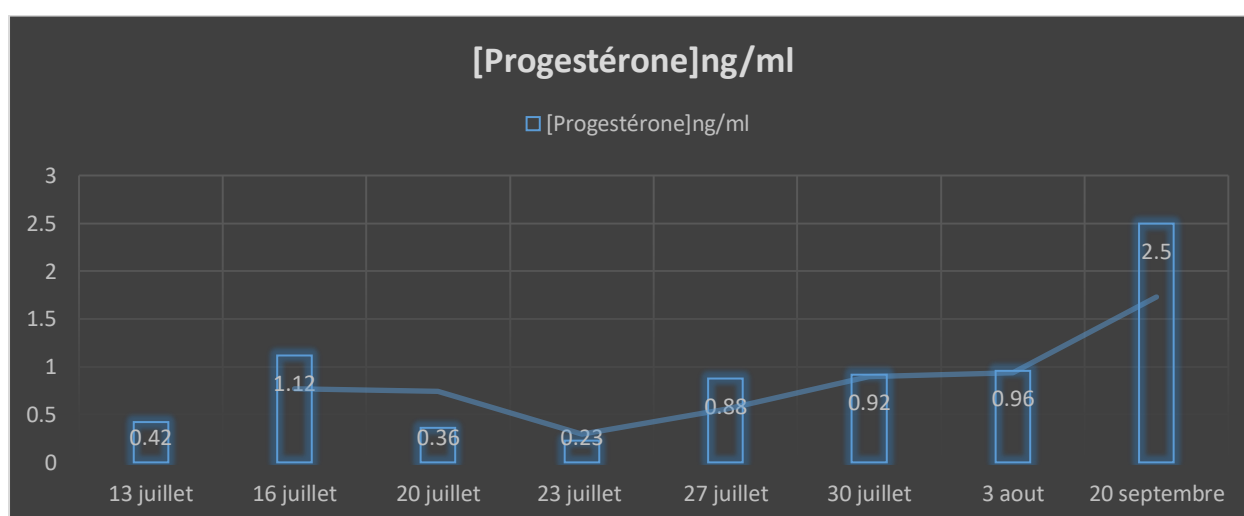


Figure 63 : La concentration de la progestérone pour la chèvre 34 (13-juil au 20 sept).

Concernant la chèvre 34 on peut aussi voir qu'il existe une variation de la concentration lors de la première partie de l'étude autour du 0.23-0.42 ng/ml comme concentrations minimales pour les prélèvements du 13-20-23 juillet et une maximale autour de 1.12 ng/ml le 16 juillet signant une ovulation et donc une cyclicité.

Mais elle n'a jamais re-dépassé cette dose indiquant une phase folliculaire sans ovulation ou bien une possible formation d'un corps jaune sécrétant des doses de P4 faibles car les

concentrations dépassent les 0.9 ng/ml qui est la maximale d'une phase folliculaire (Tamboura, Sawadog, 1998), et donc a confirmé par cytologie.

Cette chèvre comme les précédentes a été aussi saillie en septembre où on a constaté une concentration de 2.5 ng/ml pour le prélèvement du 20 septembre (gestation).

Chèvre 41

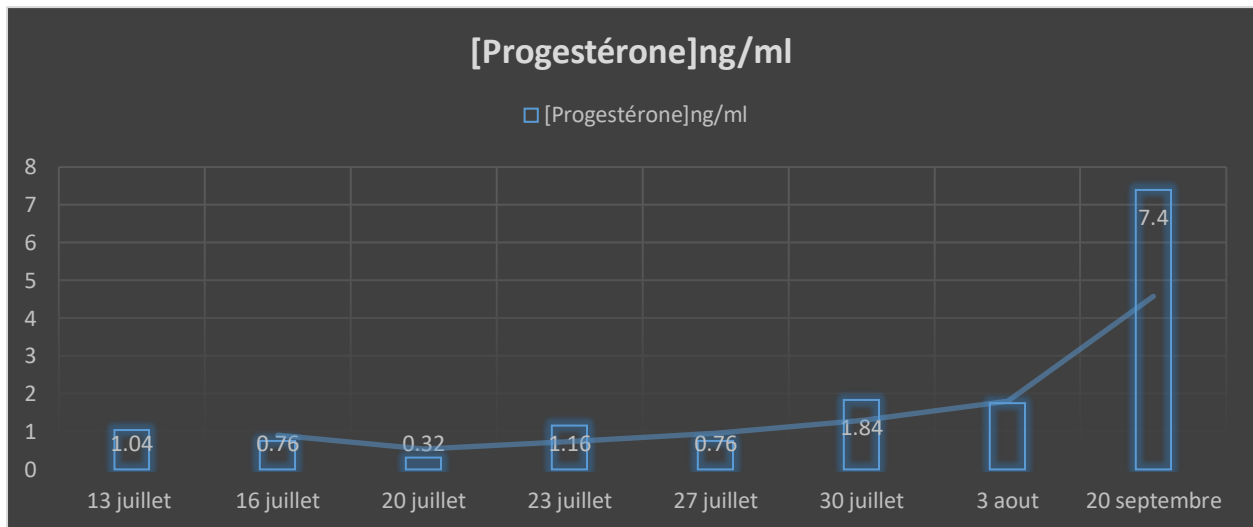


Figure 64 : La concentration de la progestérone pour la chèvre 41(13-juil au 20 sept).

Comme on peut le voir, on distingue plusieurs cycles de variation de la progestérone entre les valeurs supérieures / inférieures à 1 ng/ml signe du passage de la phase folliculaire à la phase lutéale.

Par exemple la concentration de 1.04 ng/ml est enregistrée le 13 juillet (phase lutéale) qui baisse progressivement jusqu'à 0.32 ng/ml le 20 juillet (période péri-ovulatoire) puis remonte à hauteur de 1,16 ng/ml le 23 juillet qui redescend sous la barre 0.9 ng/ml (phase folliculaire) ce qui peut être le signe d'une lutéolyse précoce qui va vite remonté à 1.84 ng/ml signe de formation d'un corps jaune.

Donc on distingue un cycle court de 11j marqué par 2 dépressions de la P4 (16 juillet et 27 juillet)

En septembre on constate une concentration de 7.4 ng/ml et comme les chèvres précédentes elle a été saillie en début du mois.

(Toutes les chèvres présumées gestante ont une progésteronémie supérieure à 2ng/ml ce qui confirme leurs état physiologique).

4.3.2) Relation entre les résultats cytologiques et le dosage hormonal**Chèvre 10**

	Cytologie		Vaginale		Profil hormonal
	Cellules Para basales	Cellules Intermédiaires	Cellules Superficielles	Cellules Métœstrales	[Progestérone] ng/ml
13 juillet	30.6%	48.5%	20.9%	0%	/
16 juillet	39.5%	45.9%	1.2%	16.1%	0.86
20 juillet	58.5%	33.4%	8.4%	0%	0.36
23 juillet	26%	43%	13%	18%	0.76
27 juillet	54%	46%	0%	0%	/
30 juillet	26%	41%	6%	42%	0.92
03 août	22%	63%	7%	8%	0.96
20 septembre	01%	11%	88%	00%	0.75
23 septembre	24%	23%	53%	0%	1.35

Tableau 4 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la
progestérone pour la chèvre 10

Comme on peut le constater on distingue la présence des 4 types cellulaires dans 45% des frottis avec une richesse cellulaire en moyenne 200/300 cellules par lames avec la prédominance des cellules para basales et intermédiaires (caractéristique phase lutéale), ainsi quelques cellules métoestralles sur le prélèvement du 30 juillet, sans avoir de prédominances significatives des cellules superficielles avec un maximum de 20.9% le 13 juillet.

Dans la deuxième partie (20-23 septembre) les résultats montrent la prédominance de cellules de type superficielle avec 88% sur le frottis du 20 septembre (caractéristique de l'œstrus), la chèvre a été saillie avec succès juste après le deuxième prélèvement ce qui a interrompu la suite des prélèvements.

On remarque pour cette chèvre que les concentrations les plus élevées en P4 coïncident avec la présence des cellules métoestralles avec prédominance des cellules intermédiaires comme pour les prélèvements du 16-30 juillet et le 3 août.

La concentration de 0.7 ng/ml est enregistrée le 20 septembre correspondant à la phase d'œstrus.

Par contre pour le prélèvement du 23 septembre on note une progésteronémie élevée et une présence de 53% de cellule superficielle ceci peut être dû à une réponse tardive de la muqueuse

vaginale (intervalle entre augmentation de P4 et modification cytologique) néanmoins on note la baisse des cellules superficielles par rapport au frottis précédent (œstrus) ce qui coïncide avec l'augmentation de la P4.

Chèvre 16

	Cytologie		Vaginale		Profil hormonal
	Cellules Para basales	Cellules Intermédiaires	Cellules Superficielles	Cellules Métœstrales	[Progestérone] ng/ml
13 juillet	52%	12%	36%	0%	0.3
16 juillet	51,1%	44,5%	04%	0%	0.84
20 juillet	07%	21%	71%	0%	1
23 juillet	52%	39%	07%	0%	0.84
27 juillet	26%	66%	08%	+ + +	1.04
30 juillet	23%	61%	16%	0%	1
03 aout	15%	38%	47%	0%	0.88
20 septembre	02%	96%	02%	0%	6.87

Tableau 5 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de
la progestérone pour la chèvre 16

On peut constater pour cette chèvre une variation importante des pourcentages des cellules d'un prélèvement à l'autre, concernant le 13-16-23-27-30 juillet on note la prédominance des cellules intermédiaires et parabasales (caractéristiques de la phase lutéale)

Les cellules superficielles (+70% caractéristiques de l'œstrus) pour le 20 juillet et le 03 aout (+40%)

La prédominance des cellules métœstrales pour le frottis du 27 juillet (caractéristiques du metoestrus)

Pour le 20 septembre on a 96% de cellules intermédiaires témoignant une gestation.

Pour le profil hormonal, on note que les prélèvements avec une concentration supérieures à 1 ng/ml correspondent aux frottis qui présentent une prédominance des cellules intermédiaires et parabasales avec des pourcentages totaux de 92%-84%-98% respectivement pour les frottis du 27-30 juillet et 20 septembre. Cependant, un pourcentage important des cellules métœstrales sur le frottis du 27 juillet a été enregistré.

Par contre les prélèvements avec une concentration inférieure à 1 ng/ml présentent toujours des cellules superficielles à des pourcentages différents par exemple le frottis du 13 juillet et du 3 aout possèdent respectivement 36%-47% de cellules superficielles avec une concentration de 0.3-0.88ng/ml.

Néanmoins, comme pour la chèvre précédente, le profil hormonal ne coïncide pas avec la cytologie vaginale pour les prélèvements du 20 juillet (P4=1ng/ml, cellules superficielles 77%) ce qui nous laisse poser la même hypothèse du délai de réponse hormonale.

Chèvre 31 :

	Cytologie Vaginale				Profil hormonal
	Cellules Para basales	Cellules Intermédiaires	Cellules Superficielles	Cellules Métœstrales	[Progestérone] ng/ml
13 juillet	45%	51%	04%	0%	0.34
16 juillet	02%	25%	0%	73%	/
20 juillet	10%	45%	45%	0%	1.84
23 juillet	15%	80%	05%	0%	1.04
27 juillet	01%	0%	99%	0%	1.04
30 juillet	60%	24%	16%	0%	1.44
03 aout	47%	15%	38%	0%	0.96
20 septembre	01%	97%	0%	02%	5.61

Tableau 6 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 31

Pour la première partie de l'étude on distingue la prédominance des cellules parabasales et intermédiaires sur les prélèvements du 13-23-30 juillet, les cellules superficielles sont majoritaires dans les prélèvements du 27 juillet (+90%) caractéristiques de l'œstrus, et les cellules métœstrales prédominent sur le frottis du 16 juillet (phase metœstrales)

Pour le frottis du 20-septembre la chèvre a été saillie avec succès en début du mois et présente une prédominance des cellules intermédiaires 97%.

Comme on peut le constater la prédominance de cellule parabasale et intermédiaire concorde avec une progésteronémie supérieure à 1 ng/ml (phase lutéale) pour les frottis 20-23 juillet et du 20 septembre.

Sauf pour les prélèvements du 27 juillet où on a un frottis caractéristique de l'œstrus avec une progésteronémie élevée 1.04 ng/ml (phénomène observé chez les autres chèvres) qui peut aussi représenter le début du metoestrus ou les cellules superficielles sont encore présentes en très grande quantité.

Chèvre 34 :

	Cytologie		Vaginale		Profil hormonal
	Cellules Para basales	Cellules Intermédiaires	Cellules Superficielles	Cellules Métoestrales	[Progestérone] ng/ml
13 juillet	37%	35%	28%	0%	0.42
16 juillet	20%	10%	0%	70%	1.12
20 juillet	39%	50%	11%	/	0.36
23 juillet	14%	18%	0%	68%	0.23
27 juillet	09%	14%	77%	0%	0.88
30 juillet	07%	61%	39%	0%	0.92
03 aout	15%	41%	44%	0%	0.96
20 septembre	10%	74%	16%	0%	2.5

Tableau 7 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 34

On peut voir que pendant la première partie de l'étude les cellules intermédiaires et parabasales sont présentes dans 100% des frottis par contre les cellules superficielles sont présentes dans 80% des frottis et prédominant seulement sur le prélèvement du 27 juillet (77%) où on note une progésteronémie inférieure à 0.9 ng/ml correspondant à une phase folliculaire.

Le 13-30 juillet et le 3 Août on note la prédominance des cellules intermédiaires et superficielles (pro-œstrus) avec une P4 inférieure à 1 ng/ml.

Par contre la baisse de cette concentration à 0.88 ng/ml coïncide avec l'apparition des cellules superficielles (77%) dans le frottis du 27 juillet.

Pour le 16 juillet, la P4 a une moyenne de 1.12 ng/ml avec absence de cellules superficielles associée à une grande quantité de polynucléaire neutrophile caractérisant une ovulation.

Pour le 20 septembre où la chèvre était gestante on note une prédominance des cellules intermédiaires (74%) avec une progésteronémie de 2.5 ng/ml.

Chèvre 41 :

	Cytologie		Vaginale		Profil hormonal
	Cellules Para basales	Cellules Intermédiaires	Cellules Superficielles	Cellules Métoestrales	[Progestérone] ng/ml
13 juillet	43%	51%	06%	0%	1.04
16 juillet	20%	55%	20%	05%	0.76
20 juillet	06%	72%	12%	+ + +	0.32
23 juillet	17%	69%	14%	0%	1.16
27 juillet	02%	92%	06%	+ + +	0.76
30 juillet	40%	44%	16%	0%	1.84
03 aout	07%	38%	57%	+ + +	/
20 septembre	06%	88%	04%	02%	7.4

Tableau 8 : Représente les résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la
progesterone pour la chèvre 41

D'après le tableau ci-dessus, on peut voir qu'il y'a prédominance des cellules parabasales et intermédiaires dans 90 % des frottis avec présence de cellules superficielles en pourcentage variable dans les frottis du 13- 16 – 23 – 31 juillet (fin dioestrus ou début proestrus) avec un maximum de 57% enregistré le 3 aout.

Le frottis du 20 septembre contient 88% des cellules intermédiaires caractéristiques d'une phase lutéale (gestation).

Son profil hormonal est dominé par la phase lutéale exprimée par une concentration supérieure à 1 ng/ml sur 90% des prélèvement qui coïncident avec la prédominance des cellules intermédiaires et parabasales avec un maximum le 30 juillet pour la première partie de l'étude et une progésteronémie de 1.84 ng/ml et le 20 septembre avec une concentration en P4 de 7.4 ng/ml pour la 2ème partie de l'étude correspondant à une gestation.

4.4) Discussion

D'après nos résultats, la progésteronémie a révélé que toutes les chèvres présentent une cyclicité ovarienne dès le début des prélèvements et que 80% des femelles présentent une progésteronémie supérieures à 1 ng/ml signe de présence d'une structure lutéale.

Pareillement, les résultats obtenus par Achour en (2015) sur la reprise de l'activité sexuelle post-partum chez la race autochtone que la concentration progésteronique en phase folliculaire varie entre 0.53 +/-0.26 ng/ml en moyenne, et une concentration supérieure ou égale à 1 ng/ml est le signe de la présence d'un corps jaune fonctionnelle. D'ailleurs de nombreux auteurs, Tamboura et Sawadog en (1998), Thimonnier (2000), ont rapporté qu'en anœstrus la progésteronémie présente un niveau basal constant où les niveaux de progésterone plasmatique pendant cette période anovulatoire sont en général inférieurs à 0,5 ng/ml, alors que chez les femelles ovulatoires, les niveaux de progésterone sont caractérisés par une alternance de valeurs faibles pendant la période péri-ovulatoire, et élevées pendant la phase lutéale. Ainsi, deux prélèvements suffisent largement pour détecter une éventuelle cyclicité chez la chèvre. (Thimonier en 2000)

Pour ce qui est de la durée du cycle, nos résultats ont rapporté l'existence de cycles courts de (10j à 11j). De même, l'étude réalisée par Achour (2015) a enregistré des cycles courts de 3 à 16 jrs chez 45% des femelles surtout en mois de juillet, période de baisse de l'activité ovarienne.

Pareillement l'étude de Charallah, (2000) a rapporté que la durée du cycle œstrien normal chez la chèvre Bédouine est de 20 jours avec présence de cycle courts et longs , ainsi que chez la race D'man avec des cycles normaux de 20 jours en moyenne et des cycles courts de 10.5 jours en moyenne

Cependant, une lutéolyse précoce d'un corps jaune de mauvaise qualité pourrait expliquer ces cycles courts d'où un suivi échographique pourrait être nécessaire.

D'après (Cheminau et Thimonier, 1986) l'étiologie des cycles courts chez les petits ruminants n'est pas élucidée mais ils semblent être dus à une mauvaise qualité du corps jaune avec une durée de vie sécrétoire limitée et surtout influencée par le bilan énergétique négatif comme le rapporte (Oldham et al, 1979).

Il est à noter, que durant cette étude les dosages de la progésterone sérique viennent confirmer le suivi cytologique des femelles. Cependant la prédominance des cellules superficielles était

associée le plus souvent à de faibles valeurs de la progestéronémie et les cellules intermédiaire et para-basale à des valeurs de P4 supérieures à 1ng/ml.

Les études de (Teter, 1972 ; Schneider et al. 1977 ; Perez et al. 1999) ont montré que les œstrogènes provoquent la prolifération, la maturation de l'épithélium et exfoliation qui se caractérisent par l'apparition de cellules superficielles isolées. Lors du pro-œstrus, la proportion en cellules parabasales et petites cellules intermédiaires diminue progressivement, au profit des cellules superficielles nucléées et anucléées (Feldman et Nelson, 1996 ; Johnston et al, 2001). Lors de l'œstrus, le pourcentage des cellules superficielles isolées augmentent à plus de 60% (Feldman et Nelson, 1996). Pareillement, l'étude expérimentale de Achour en (2015) a confirmé que la prédominance des cellules superficielles est spécifique d'une période peri-ovulatoire.

Nos résultats montrent également que l'élévation de la progestérone plasmatique (>1 ng/ml) est associée à une augmentation (80%) les cellules parabasales et intermédiaires.

L'administration de la progestérone sur une muqueuse vaginale atrophique provoque l'apparition de placards de cellules cyanophiles intermédiaires riches en glycogène, la progestérone possède donc une action proliférative et favorise la desquamation intense et précoce des cellules au stade intermédiaire avant qu'elles n'atteignent leur stade ultime de maturation (Gompel, 1982).

Aussi, d'après la même étude, pendant le dioestrus on assiste à une diminution du nombre de cellules superficielles éosinophiles à noyaux pycnotiques et réapparition des placards de cellules cyanophiles superficielles et intermédiaires. De même, d'après (Perez, 1999) les cellules intermédiaires et parabasales sont présentes en plus grande quantité pendant la phase lutéale lorsque la progestérone est en plateau. Pareillement avec les résultats de Achour en (2015) qui ont montré que les cellules intermédiaires sont associées à la phase lutéale avec une progésteronémie supérieurs à 1ng/ml.

Ainsi, Akusu et al. (1992) ont conclu que les niveaux d'œstradiol et de progestérone suivent les phases lutéique et folliculaire, mais la progestérone est plus significative pour la détermination de la phase du cycle œstral.

Selon nos prélèvements, les cellules métoestral (apparition de polynucléaire neutrophile) sont majoritaires dans les périodes où la progésteronémie est élevée (supérieurs à 1 ng/ml)

donc le metoestrus. Selon Feldman et Nelson (2004) ce type de cellule apparaît au début de metoestrus.

Le passage au metœstrus est caractérisé par un changement brutal des rapports quantitatifs des types de cellules épithéliales, accompagné de l'apparition de polynucléaires neutrophiles (Baker et Lumsden 2001).

Nos résultats corroborent ainsi avec ceux de Thimonier (2000) qui rapporte qu'une chèvre inséminée est supposée gravide si la concentration de P4 est supérieure à 2 ng/ml.

Sauf que certains frottis ne corrèlent pas avec le dosage hormonal où on note une progésteronémie élevée (> 1 ng/ml) et une présence de cellule superficielle dépassant les 60%.

Il est à noter que le même résultat a été rapporté par Achour en (2015).

On peut émettre une hypothèse qu'un éventuel temps d'attente est nécessaire entre le moment de l'augmentation de la P4 en post-ovulation et le changement cytologique après imprégnation hormonale. Donc le frottis a gardé les caractéristiques de la période précédente, cette hypothèse est renforcée par le frottis suivant où on a constaté une baisse très importante des cellules superficielles (chute de 70%) et augmentation des cellules intermédiaires et parabasale (augmentation de 50%). Néanmoins, une étude plus approfondie est nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

4.5) Conclusion

A l'issue de notre étude sur le suivi hormonal de la fonction sexuelle chez la race Saanen grâce à la variation de la progésteronémie et sa relation avec le suivi cytologique nous a permis de conclure que ces chèvres présentent réellement une activité sexuelle dès le début de l'expérimentation par la présence de concentration de P4 supérieure à 1 ng/ml signe d'une structure lutéale, ainsi que la présence de frottis caractéristique de l'œstrus (+ 60% de cellules superficielles).

Une relation est bien présente entre le dosage hormonal et la cytologie vaginale avec la prédominance des cellules intermédiaires et parabasales lors de la phase lutéale, et la prédominance des cellules superficielles lors de la période péri-ovulatoire., Cependant, des cycles courts ont été mis en évidence pendant notre expérimentation.

4.6) Recommandations et perspectives

- Les autorités et les chercheurs doivent donner plus d'importance au développement de la filière caprine pour optimiser la production et donc l'économie du pays et réduire ainsi les pertes dues à l'importation de bovins et la poudre de lait.
- Approfondir les études sur la reproduction caprine pour l'application future des biotechnologies liées à la reproduction (insémination artificielle, transfert embryonnaire et fécondation in vitro).
- Optimiser la productivité et la prolificité par la mise en place des protocoles de synchronisation annuels.

REFERENCES

A

- 1) Achour Yahia, 2015 contributions à l'étude des paramètres de la reproduction et saisonnalité de la chèvre autochtone.
- 2) Adamou S, Haddadi N, Hamidouche 2005 « Quel rôle pour les fermes pilotes dans la préservation des ressources génétiques en Algérie »
- 3) Akusu M, Osuagwuh A, Ovarian activities of the west African goat during oestrus 1986

B

- 4) Baker R and Lumsden JH. (2001) « Atlas de cytologie canine et féline » Masson, Paris (2001)
- 5) Baril, G ; Chemineau. P et Cognie. Y « Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins .1993
- 6) Baril G, Remy B, Vallet J.C, Beckers J.F, 1992. «Effect of repeated use of progestagen-PMSG treatment for oestrus control in dairy goat out of breeding season». Reprod. Domestic Anim.
- 7) Barone R., 1900. « Anatomie comparée des mammifères domestiques ».Tome 3, splanchnologie, Fascicule 2, appareil urogénital
- 8) Bessis M. Cellules du sang normal et pathologique. Paris : Masson et Cie ; 1972
- 9) Bonnes. G, Desclaude. J, Drogoul. C, Gadoud. R, Jussiau. R, Le Loc'h. A, Montmeas. L et Robin. J, « Reproduction des animaux d'élevage ». Les éditions EDUCAGRI, deuxième édition.2005.
- 10) Boukhlik R, 2002. « Cours en ligne sur la reproduction ovine » Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. Département de reproduction animale

- 11)** Bouricha. Z, « Suivi histologique et cytologique de la fonction sexuelle chez les caprins en Algérie ». Thèse de Baker R and Lumsden JH. (2001) « Atlas de cytologie canine et féline » Masson, Paris (2001) magister en sciences vétérinaires
- 12)** Brice. G « Le dessaisonnement lumineux en production caprine. Edition de l'institut d'élevage ». (2003), [www.Inst-élevage. Asso. Fr.](http://www.Inst-élevage.Asso.Fr)
- 13)** Bressou H, 1978. « Anatomie régionale des animaux domestiques. Tome II ». Edition J-B. BAILLIERE. Paris.
- 14)** Buff S. 2001 «Protocoles d'induction de l'oestrus chez la chienne» Le Point Vétérinaire N° 212 (Janvier-Fevrier).



- 15)** Castonguay, 2012 la reproduction chez les ovins.
- 16)** Chellig R., 1978. La production animale de la steppe : Congrès sur le nomadisme en Afrique, Addis-Abbéda.
- 17)** Chantal KOHLER embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC).
- 18)** Charallah S, variations saisonnières de la fonction de reproduction chez la chèvre Bédouine Thèse de magister en science de la nature et de la vie USTB.
- 19)** Chemineau. P, Malpau. B, Pelletier. J, Leboeuf. B, Delgadello. JA, Deletang.F, Pobel. T et Brice. G. « Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodique pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins ». INRA productions animales, vol 9, (1996).
- 20)** Chemineau. P, Delgadillo. JA. « Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins». INRA Prod. Anim 1998.
- 21)** Chevrement M.,.Cytologie et Histologie.Ed. Maloine Paris(1979).
- 22)** Christine Bonnet Cadilhac 1997 « L'anatomo-physiologie de la génération chez Galien ».
- 23)** Concannon PW, Digreggio GB. (1987) Canine vaginal cytology. In Burke editorSmall animal reproduction and infertility.

- 24)** Concannon PW. Canine physiology of reproduction, in: Small animal reproduction and infertility, 1986, Burke
- 25)** Corcy J-C 1991. «La chèvre». La maison rustique ed paris.
- 26)** Couailler J La conduit et la gestion de la reproduction de quelques espèces, In : Reproductive tract.In : Reproduction des animaux domestique .Educagri éditions, Dijon.
- 27)** Cross P.C, Mercer K.L, 1993. «Ultrastructure cellulaire et tissulaire. Approche fonctionnelle». Traduit à l'anglais par Demef J.F et Hammont S, 1995.

D

- 28)** Depouy JP, Boisin J, Picon L hormones et gonades fonctions 1993.
- 29)** Deriveaux.J, Ectors. I, 1980. « Physiopathologie de la gestation et obstétrique vétérinaire ». Edition le point vétérinaire. Maison Alfort.
- 30)** Drion P-V, Beckers J.F, Ectors F, 1993. «Physiologie de la reproduction». Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire.
- 31)** Drion PV, Beckers JP, Derivaux J et Ectors F, (Août 2003) « Physiologie de la Reproduction Tome I, II et III » Polycopié de l'Université de Liège, Belgique. Faculté de Médecine Vétérinaire. IIIe Candidature.
- 32)** Dumon C. Cytologie de l'appareil reproducteur du chien et de la chienne, EMC Elsevier Masson SAS Paris Vét. Pathol. Reprod., 2009.

E

- 33)** Eilts BE. 2007 "Induction of Estrous" In: Polycopié de Louisiana State University. Department of Veterinary Clinical.
- 34)** Emmeline, Marie-Alexandrine WURTH «ETUDE COMPARATIVE DE L'OVULATION CHEZ LES MAMMIFERES THESE Pour le DOCTORAT VETERINAIRE » .2010.

35) England GCW, Concannon PW. 2002 « Determination of the optimal breeding time in the bitch; Basic considerations » (8 Jun 2002)

36) Escareño L., Salinas-Gonzalez H., Wurzinger M. , Iñiguez L. , Sölkner J. , MezaHerrera C., 2013. Dairy goat production systems. Status quo, perspectives and challenges. Trop. Anim. Health Prod.

F

37) Fabre-Nys, 2000 le comportement sexuel des caprin INRA

38) Fatet et Coll, 2010. » Le rôle de la photopériode chez la chèvre », Institut d'élevage 2010.

39) Feldman E., Nelson R. Ovarian cycle and vaginal cytology, in: Canine and feline endocrinology and reproduction

40) Fontaine.M et Cadore.JL, Vadae mecum du vétérinaire. Edition vogot, paris. (1995).

41) Fontbonne et Cadore vadeu mecum vétérinaire 1996.

G

42) Gogny, A. et Fieni, F. Comment réaliser et interpréter une analyse cytologique vaginale chez le chien et le chat. Le Nouveau Praticien Vétérinaire canine-féline 2016

43) Gompel, « Atlas de la cytologie clinique » les éditions Maloine S.A, edition Paris, (1982).

44) Gressier. B “Etude de l'influence du rapport FSH/LH dans le cadre de la superovulation chez la chèvre”. Th. Med. Vét. Nantes, vol 85. (1999).

H

45) Hamidou Tamboura, Laya Sawadogo, Aissata Wereme « caracteristiques temporelles et endocriniennes de la puberté et du cycle oestral chez la chèvre locale''Mossi'' du Burkina Faso.Biotechnol.Agron.Soc.Environ (1998).

- 46)** Hanzen C 2004. « L'anoestrus saisonnier des petits ruminants ». Cours de reproduction, université de Liège, Belgique
- 47)** Hanzen Ch « L'anoestrus pubertaire et du post-partum Année 2009-2010 », Prof. Ch. Hanzen.
- 48)** Hanzen.CH. « Maitrise du cycle des petits ruminants département thériogénologie, faculté médecine vétérinaire, université de liège, Belgique 2009-2010
- 49)** Hoffman VJ, Ilie MI, Bonnetaud C, Selva E, Long E, MolinaT, et al. Cytopathologic detection of circulating tumor cells using the isolation by size of epithelial tumor cell method : Promises and pitfalls.
- 50)** Hoffmann B, Riesenbeck R and Klein R. (1996), « Reproductive endocrinology of bitches » Animal Reproduction Science, n° 42, (1996).
- 51)** Holst PA, Phemister RD. (1974) Onset of diestrus in the beagle bitch: definition and significance.
- 52)** Humblot P, De Montigny G, Jeanguyot N, Tetedioie F, Payen B, Thibier M, Sasser RG. « Pregnancy-specific protein B and progesterone concentrations in French Alpine goats throughout gestation» J Reprod Fertil.
-
- J*
-
- 53)** Jainudeen. M.R Wahid. H et Hafez E.S. E “Sheep and goat in reproduction in farmed animals” ES. E Hafez, et, E. hafez (2002).
- 54)** Jean Christophe Corcy,. La chèvre. La maison Rustique. (1991).
- 55)** Jean-Marie Nicol vétérinaire praticien 2019.
- 56)** Johnston SD, Olson PNS, ROOT KUSTRITZ MV. (2001) Vaginal cytology. In: Canine and feline theriogenology 2001.

K

- 57)** Kanai Y, Ishikawa N. Pulsatil. Secretion of luteinizing hormone and plasma levels of ovarian steroids during the estrus cycle in the Shiba goat. 1988.
- 58)** Koss LG. Diagnostic cytology and its histopathologic bases, II, 4th ed. Lippincott Raven; 1992.

L

- 59)** Leboeuf B, Restal B, Salamou S 2003 production et conservation de la semence de bouc pour IA
- 60)** Lemelin, M « colloque sur la chèvre produire à l'année ; pourquoi et comment ? » CRAAQ (2002).
- 61)** Levasseur Mc, Driancourt Ma, (2001). Cycles oestriens et cycles menstruels. In : THIBAULT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris

M

- 62)** Malandain E and Fontbonne A. (2006) « Vagial smears in the bitch – The Royal Canin Cut-out and Keep guide »
- 63)** Mandiki, S NM, Bister. JL, Demeyer C et Paquay. R “ Effet of suckling intensity on resumption of reproductive activity in texel ewes “ In : 3eme congrès mondial de reproduction et sélection des ovins et bovins à viande INRA paris, Vol 2. 1988.
- 64)** Marsan C., Et Lecapon J. Atlas de Cytologie TOME I. 2ème édition gynécologie. Première partie : Cythologie hormonale et fonctionnelle. Varia Edition, Paris. (1972)
- 65)** McGracken J.A, Custer E.E, Lamsa J.C, 1999. «Luteolysis : a neuroendocrine mediated event».

- 66)** Mechegueg Mohand-Arezki et Benelhadj Nacer 2017 APPLICATION DES FROTTIS VAGINAUX ET DU DOSAGE DE LA PROGESTERONE AU SUIVI DES CHALEURS
- 67)** Meyer C., déc. 1992. Manuel d'insémination artificielle ovine. FAO/ZAI/71/015, 2008.
- 68)** Mialot JP. (1984) Examen de l'appareil génital femelle. In : Pathologie de la reproduction chez les carnivores domestiques
- 69)** Monniaux D, 2003. «Effet bouc, effet chèvre induite ». UMR physiologie de la reproduction et du comportement. Reproduction caprine. INRA
- 70)** Mori. Y, Kano. Y. « Changes in plasma concentrations of LH, progesterone and oestradiol in relation to the occurrence of luteolysis, oestrus and time of ovulation in the Shiba goat (*capra hircus*) ». J Reprod.Fert.
- 71)** Moussa S., 2005. Performance de reproduction et de production de la chèvre rousse de Maradi en milieu rural au Niger. Thèse : Med. Vèt.

N

- 72)** Neveux M. 1999 « Les frottis vaginaux chez la chienne » Le Point Vétérinaire
- 73)** Nizzoli R, Guazzi A, Naldi N, Fraciosi V, Bozzetti C. HER-2/neu evaluation by fluorescence in situ hybridization on destained cytologic smears from primary and metastatic breast cancer
- 74)** Noakes D. 2001. Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In: NOAKES DE, PARKINSON TJ, ENGLAND CWE. Arthur's Veterinary reproduction and obstetrics,

O

- 75)** Oettle EE and Weldhagen AA. 1982. "A modified Shorr's stain: a practical rapid stain for canine vaginal cytology"
- 76)** Oldham CM; Martin GB stimulation of seasonally anovular Merino ewes rams 1979

P

- 77)** Papanicolaou GN. "A new procedure for staining vaginal smears" Science; n°95 (1942),
- 78)** Perez-Martinez. M, Mendoza. ME, Romano. MC, « Exfoliative vaginal cytology and plasma levels of estrone and estradiol-17 β in young and adult goats. » Small Rumin Res vol (33), (1999),
- 79)** Prelaud P, Rosenberg D and Fornel P, (2002) De « Tests hormonaux : Explorations fonctionnelles en endocrinologie des carnivores domestiques » Masson - AFVAC, Paris, p 276.
- 80)** Pundel J.P, Les frottis vaginaux endocriniens. Desser-Masson - 2eme édition. (1952).

R

- 81)** Rawlings Nc, Bartlewski Pa, (2007). Clinical reproductive physiology of ewes. In: YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2ème ed. Philadelphia. 2007.
- 82)** Robert Barone ; Anatomie comparée des mammifères domestiques 1978.
- 83)** Rotten, D., « Régulation de la synthèse et de la sécrétion de la FSH » Dans « la reproduction chez les mammifères et l'homme ». Eds : THIBAULT. C, LEVASSEUR. M-C, Edition INRA Ellipses (2001).
- 84)** Roux.M, « alimentation et conduite de troupeau ovin ». Technique Agricole (1986).

S

- 85)** Scheneider V, Et Al. Hormonal Cytology: a correlation with plasma estradiol measured by radioimmunoassay 1977
- 86)** Schutte AP. Canine Vaginal Cytology-III Compilation and Evaluation of CellularIndices.J. Small Anim. Pract., 1967

- 87)** Sellors et R. Sankaranarayanan J.W. Colposcopie et Traitement des Néoplasies Cervicales Intraépithéliales : Manuel à l'usage des débutants 2003.
- 88)** Soltner D, 1993. « Zootechnie générale, tome 1. La reproduction des animaux d'élevage ». Edition INRA, science et technique agricole.
- 88)** Sutherland. SRD, Lindsay. DR. « Ovariectomized does do not require progesterone priming for oestrus behaviour».
- 90)** Sylvie CHASTANT et au Docteur Patricia RONSIN, Unité de Reproduction de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

T

- 91)** TAMBOURA. Laya SAWADOGO Caractéristiques temporelles et endocriniennes de la puberté et du cycle œstral chez la chèvre locale « Mossi » du Burkina Faso 1998
- 92)** Teter J. 1972 « the use of selected cytology indices for evaluation of oestrogenicity of synthetic compounds»
- 93)** Thibault C, Levasseur M-C, 2001. « La reproduction chez les mammifères et l'homme ». INRA, Editions Ellipses
- 94)** Thimonier J. ENSA.M-INRA, UMR Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone 2000.
- 95)** Thimonier J. ; 2004 “diagnostic et suivi de gestation chez la chèvre et la brebis”

V

- 96)** Vaissaire J-P., 1977. «Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoires». MALOINE S.A. EDITEUR
- 97)** Van Lom K, Hagemeijer A, Smit EM, Löwenberg B. In situ hybridization on MayGrünwald Giemsa-stained bone marrow and blood smears of patients with hematologic disorders allows detection of cell-lineage-specific cytogenetic abnormalities

98) Volkmann DH, Lamb SV, Schanbacher BJ, Salerno VS, Kretz CM, Hansen BS and Vincent SE. 2004 “The effects of storage time and temperature and anticoagulant on canine blood progesterone concentrations” In: Proceeding of the 5th International Symposium of Canine and Feline Reproduction. Sao Paulo, Bresil.

W

99) Wright JH. A rapid method for the differential staining of blood films and malarial Parasites

Z

100) Zarrouk A., Souilem O., Drion P.V., Beckers J.F., 2001. « Caractéristiques de la reproduction de l’espèce caprine. » Ann. Méd.Vét.

101) Zebiri M^{ed} ezzine ; Djamai Abdelhadi. Le 19 Avril 2007

Annexes

N°	Sexe	Matricule	Nombre de gestation	nombre de petits 2018/2019	nombre de petits 2019/2020	diagnostic séro/ histopath	coproscopie	Autres	Antécédents pathologique
1	female	095/39	2	1		brucellose - (serologie)			10 avortement au dernier 1/3 de gestation 2 dystocies 3 mammites cliniques purulentes 3 rétentions placentaires 5 mortués néonatales (diarrhée néonatale)
2	female	095/02	2	non gestante		brucellose - (serologie)			
3	female	095/22	2	non gestante		brucellose - (serologie)		mammites sub clinique	
4	female	095/31	2	non gestante		brucellose - (serologie)		endométrite	
5	female	095/12	2	non gestante		brucellose - (serologie)			
6	female	095/38	1	1		brucellose - (serologie)	negatif		
7	female	095/37	1	gestante		brucellose - (serologie)	negatif		
8	female	095/42	0	avortage sanitaire		brucellose + (serologie)	negatif		
9	female	095/41	2	gestante		brucellose - (serologie)			
10	female	095/16	2	non gestante		brucellose - (serologie)			
11	female	morte	2			tuberculose + (histopath)			
12	mle	mort						suspicion tuberculose	
13	female	095/19	2	1					
14	female	095/06	2	1					
15	female	095/01	2	1					
16	female	095/27	2	3 (1 female)					
17	female	095/44	2	2 femelles					
18	female	095/21	2	2					
19	female	095/23	2	2 (1 female)					
20	female	095/52	2	1					
21	female	095/36	2	1					
22	female	095/26	2	2 femelles					
23	female	095/07	2	1					
24	female	095/30	2	avortement					
25	female	095/30	2	avortement					
26	female	095/17	2	avortement					
27	female	095/11	2	gestante					
28	female	095/09	2	gestante					
29	female	095/20	2	gestante					
30	female	095/34	2	gestante					
31	female	095/24	2	gestante					
32	female	095/08	2	gestante					
33	female	095/14	2	gestante					
34	female	095/45	2	gestante					
35	female	095/46	2	gestante					
36	female	095/48	2	gestante					
37	female	095/28	2	gestante					
38	female	095/32	2	non gestante					
39	female	095/50	2	non gestante					
40	mle	095/56							
41	mle	095/57							
42	mle	095/58							

Annexe 01 : tableau récapitulatif de suivi d'élevage

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière
INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE

Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques Vétérinaires

DR. Y. BENALI IPA N° : 02/19

Animal : Caprin
Age : NC
Vétérinaire traitant : Dr SOUAMES (ENSV)
Nom du propriétaire : Mr ABGULAICHE Rachid
Nature du prélèvement : Prélèvement d'autopsie
Siège du prélèvement : Foie.
Date réception : 02/01/19 Date remise : 09/01/19

COMPTE RENDU

Cher confrère,

Vous nous avez adressé, deux fragments hépatiques prélevés suite à l'autopsie d'un caprin de sexe et âge inconnus, pour examen anatomopathologique dans le cadre d'une suspicion de tuberculose bovine.

L'examen macroscopique des fragments hépatiques, met en évidence la présence de lésions granulomateuses blanches jaunâtres multifocales à coalescentes friables de 0.3 à 0.5 cm de diamètre.

Un examen histopathologique des dits prélèvements, effectué après, déshydratation, inclusion, coupe coloration en hématoxyline éosine, met en évidence sur plusieurs niveaux de coupe la présence au sein du parenchyme hépatique de lésions inflammatoires granulomateuses à centre nécrotique (nécrose caséuse majoritairement calcifiée). En périphérie et au contact du centre nécrotique, on note la présence d'une infiltration inflammatoire composée de macrophages spumeux et épithélioïdes, des histiocytes, des cellules géantes pluri nucléées de type Langhans essentiellement, ainsi qu'une couronne périphérique de lymphocytes.

Conclusion :

Hépatite granulomateuse multifocale modérée chronique avec présence de cellules géantes de type Langhans. Le diagnostic histopathologique est en faveur d'une hépatite tuberculeuse.

Ces résultats sont valables dans la limite des échantillons adressés.

Institut Pasteur d'Algérie
Chef de Laboratoire d'Anatomie
et de Cytologie Pathologiques
Vétérinaires
Dr. Yasmine BENALI

Annexe 02 : un certificat de la part de l'institut pasteur confirme l'existence de la tuberculose au sein de l'élevage (chez un sujet déjà mort – histopathologie-)



Annexe 03 : attestation de participation a la première journée scientifique internationale caprine par un poster de notre étude cytologique