

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

Thème

**Évaluation de l'activité sexuelle post-partum par la
cytologie vaginale et la progestérone plasmatique
chez la chèvre locale**

« Cas de la ferme expérimentale - ENSV »

Présenté par :

Mr OULMI Nabil

Soutenu publiquement, le 14 septembre 2022 devant le jury :

Mr LAMARA A.	PROFESSEUR (ENSV)	Président
Mme AOUANE N.	MCB (ENSV)	Examinatrice
Mr SOUAMES S.	MCA (ENSV)	Promoteur

2021-2022

Dédicaces



Je dédie ce travail à mes très chers parents qui ont fait en sorte que l'amour de savoir soit un véritable crédo pour leurs enfants.

A ma sœur jumelle Manel et mon frère Mehdi qui ont su m'épauler.

A mes deux tantes Moufida et Nacera qui m'ont encouragé sans cesse et cru en moi.

A ma tante Aalya et son époux Lamine pour leur soutien et leur générosité à mon égard.

A mes cousines Sara et Dyna ainsi que toute ma famille.

A mes défunts grands-parents.

A Meriem pour ses conseils et sa disponibilité à mes côtés.

Je dédie aussi mon travail à un être cher à mes yeux Lilia à qui je voue respect et fidélité, car de bonheur, d'abnégation et de bienveillance elle m'a toujours comblé.

Ainsi qu'à toute personne qui m'a soutenu et encouragé durant mon cursus.

Nabil

Remerciements



S'il est coutume en de telle circonstance d'adresser un remerciement au-delà d'une simple tradition, je tiens à remercier particulièrement mon promoteur Mr Souames pour ses énormes qualités d'homme de sciences, cela suscite respect et admiration. Merci pour votre simplicité, votre disponibilité ainsi que votre souci constant à l'aboutissement de ce projet.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté à me reconstruire et répondre à mes questions durant mes recherches.

Je remercie Mme Aouane et que toute ma gratitude lui soit réservée pour avoir accepté d'évaluer mon travail.

Mes sincères remerciements à Mr Lamara qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.

Je remercie mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi, « vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni effort. Vous m'aviez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis reconnaissant d'une éducation dont je suis fier ».

Je remercie ma jumelle Manel, mon frère Mehdi et sa femme Katia pour leur encouragement.

Je remercie très spécialement Lilia et Meriem qui ont toujours été là pour moi. Je tiens à remercier Amina, Samy, Mehdi, Islem, Amine, Zinou et Bouchera, pour leur amitié, leur soutien inconditionnel et leur encouragement.

Je remercie Soltana et sa maman pour leur gentillesse et bienveillance

Je tiens à remercier Rachid pour son aide si précieuse durant toute la durée de mon travail.

Je remercie aussi Kaddour Rachid ainsi que Saadi Ahmed pour leur aide précieuse.

Enfin je remercie tous mes Ami(e)s de la promotion pour leur sincère amitié et confiance et à qui je dois ma reconnaissance et mon attachement.

A tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Résumé

L'Objectif de notre travail est de mettre en évidence l'activité sexuelle chez l'espèce caprine de race autochtone élevée dans nos conditions locales, en se basant sur l'identification cellulaire des assises de la muqueuse vaginale et sur le dosage de la progestéronémie. Cette étude a été réalisée au niveau de la ferme expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, sur un effectif de 04 chèvres. Les femelles ont fait objet d'un examen échographique afin d'écarter un état gestationnel, puis des frottis vaginaux et des prélèvements sanguins, afin de doser la progestéronémie, ont été réalisés 3 fois par semaine pendant 4 semaines. A l'issue de nos résultats cytologiques et hormonaux, une richesse cellulaire (parabasales, intermédiaires, superficielles et metœstrales) dans presque la totalité des frottis vaginaux ainsi qu'une variation de la concentration de la progestérone sérique ($<$ et $>$ à 1ng/ml) ont été enregistrées. En conclusion, les résultats cytologiques et hormonaux confirment bien une cyclicité ovarienne post-partum chez les chèvres autochtones élevées dans nos conditions climatiques.

Mots clés : Chèvre, cytologie vaginale, progestéronémie, post-partum, cyclicité.

Abstract

The objective of our work is to highlight the sexual activity in the native goat species raised in our local conditions, based on the cellular identification of the bases of the vaginal mucosa and on the dosage of progesteronemia. This study was carried out at the level of the experimental farm of the National Veterinary College, on a number of 04 goats. The females were subjected to an ultrasound examination in order to rule out a gestational state, then vaginal smears and blood samples, in order to measure the progesteronemia, were carried out 3 times per week during 4 weeks. At the end of our cytological and hormonal results, a cell richness (parabasal, intermediate, superficial and metoestral) in almost all vaginal smears as well as a variation in serum progesterone concentration ($<$ and $>$ 1ng/ml) were recorded. In conclusion, the cytological and hormonal results confirm a postpartum ovarian cyclicity in native goats raised under our climatic conditions.

Key words : Goat, vaginal cytology, progesterone, postpartum, cyclicity.

ملخص

الهدف من عملنا هو تسليط الضوء على النشاط الجنسي في أنواع الكابرين من السلالة الأصلية التي نشأت في ظروفنا المحلية، بناء على التحديد الخلوي لأسس الغشاء المخاطي المهبلية وعلى جرعة البروجسترون. أجريت هذه الدراسة على مستوى المزرعة التجريبية بالمدرسة الوطنية العليا للطب البيطري على قوة عاملة قوامها 04 ماعز. خضعت الإناث لفحص الموجات فوق الصوتية لاستبعاد حالة الحمل، ثم تم إجراء مسحات المهبل وعينات الدم، من أجل قياس هرمون البروجسترون، 3 مرات في الأسبوع لمدة 4 أسابيع. في نهاية نتائجنا الخلوية والهرمونية، كان الثراء الخلوي (متوسط ، سطحي ومتوسط) في جميع اللطاخات المهبليّة تقريباً بالإضافة إلى تباين في تركيز مصل البروجسترون (<عند 1 نانوغرام / مل) كان مسجل.

في الختام، تؤكد النتائج الخلوية والهرمونية بوضوح دور المبيض بعد الولادة في الماعز الأصلية التي تمت تربيتها في ظروفنا المناخية.

الكلمات المفتاحية : الماعز، فحص الخلايا المهبليّة، البروجسترون، ما بعد الولادة، الدورة

Table des matières

Dédicaces et Remerciements.....	
Résumé.....	
Table des matières.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Chapitre 01 : Cytologie de la muqueuse vaginale au cours du cycle sexuel

1.1. Histologie de la muqueuse vaginale.....	2
1.1.1. L'épithélium.....	2
1.1.2. Chorion.....	2
1.2. Les Différents types de cellules de la muqueuse vaginale.....	3
1.2.1. Cellules basales.....	3
1.2.2. Cellules parabasales.....	3
1.2.3. Cellules intermédiaires.....	4
1.2.1.1. Les petites cellules intermédiaires.....	4
1.2.1.2. Les grandes cellules intermédiaires.....	5
1.2.4. Cellules superficielles.....	5
1.2.5. Cellules metœstrales.....	6
1.2.6. Les cellules spumeuses ou « foamcells ».....	6
1.2.7. Cellules superficielles contenant des corps cytoplasmiques.....	7
1.2.8. Cellules de la fosse clitoridienne.....	7
1.3. Effet hormonal sur la muqueuse vaginale.....	8
1.4. Modifications cytologiques de la muqueuse vaginale au cours du cycle sexuel.....	9
1.4.1. Anœstrus.....	9
1.4.2. Phase folliculaire ou œstrogénique.....	9
1.4.2.1. Prœstrus.....	9
1.4.2.2. Œstrus.....	10
1.4.3. Phase lutéale ou Progestéronique.....	10
1.4.3.1. Metœstrus.....	10

1.4.3.2. Diœstrus.....	11
1.5. Frottis vaginaux.....	11
1.5.1. Technique de réalisation.....	11
1.5.1.1. Prélèvement.....	11
1.5.1.2. Etalement.....	12
1.5.1.3. Fixation.....	12
1.5.2. Coloration du Frottis.....	13
1.5.2.1. La coloration au bleu de méthylène.....	13
1.5.2.2. La coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG).....	13
1.5.2.3. La coloration de Harris-Shorr.....	14
1.5.2.4. La coloration de Papanicolaou.....	14
1.6. Observation au microscope.....	15

Chapitre 02 : Variation de la progestérone sérique au cours du cycle sexuel

2.1. Généralités.....	16
2.2. Variation du taux de progestérone en fonction de l'état physiologique.....	16
2.3. Techniques de dosage de la progestérone.....	18
2.3.1. Méthodes quantitatives.....	19
2.3.1.1. Méthodes immuno-enzymatique.....	19
2.3.1.2. Méthodes radio-immunologiques.....	19
2.3.2. Méthodes semi quantitatives.....	19
2.4. Variation de la concentration de la progestérone et de la cytologie vaginal durant le cycle sexuel.....	20

Partie expérimentale

Chapitre 03 : La cytologie vaginale et le dosage de la progestérone sérique en post-partum

3.1. Objectif.....	21
3.2. Situation géographique de la région d'étude.....	21
3.3. Matériels.....	21
3.3.1. Bergerie.....	21
3.3.2. Frottis Vaginaux.....	22
3.3.3. Dosage Hormonal.....	24
3.4. Méthodes.....	26
3.4.1. Identification et diagnostic de gestation.....	26
3.4.2. Frottis Vaginaux.....	26
3.4.3. Colorations et l'observation au Microscope.....	27
3.4.4. Prélèvement sanguin.....	27
3.5. Résultats.....	29
3.6. Quelques lames personnelles.....	36
3.7. Discussion.....	38
3.8. Conclusion.....	39
3.9. Perspectives et recommandations.....	39

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 1.1 : Épithélium pavimenteux non kératinisé pluristratifié. (Kohler).....	2
Figure 1.2 : Coupe histologique de la muqueuse vaginale.....	3
Figure 1.3 : Cellules parabasales.....	4
Figure 1.4 : Petites cellules intermédiaires.....	4
Figure 1.5 : Grande cellule intermédiaire	5
Figure 1.6 : Cellules superficielles (microscope optique)	6
Figure 1.7 : Cellules superficielles (avec noyau pycnotique ou bien anuclées).....	6
Figure 1.8 : Cellules metoestrales.....	6
Figure 1.9 : Cellule spumeuse colorée au May-Grünwald-Giemsa au grossissement 1000.....	6
Figure 1.10 : Cellule superficielle présentant des corps cytoplasmiques colorée au May-Grünwald-Giemsa au grossissement 1000.....	7
Figure 1.11 : Cellules clitoridiennes colorées au May-Grünwald-Giemsa au grossissement 400.....	7
Figure 1.12 : Les cellules du frottis vaginal.....	8
Figure 1.13 : Ecouvillonnage et prélèvement vulvaire.....	12
Figure 1.14 : Technique d'étalement d'un prélèvement sur une lame.....	12
Figure 1.15 : Kit de coloration MGG.....	14
Figure 1.16 : Les étapes de coloration MGG.....	14
Figure 1.17 : Colorant Harris-Shorr.....	14
Figure 1.18 : Colorants utilisés dans la coloration Papanicolaou.....	15
Figure 1.19 : frottis vaginale coloré avec la technique Papanicolaou.....	15
Figure 2.1 : Concentration plasmatique moyenne de progestérone durant le cycle œstral chez la chèvre.....	18
Figure 3.1 : Localisation de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV).....	21
Figure 3.2 : Animaux de la bergerie.....	21
Figure 3.3 : Bâtiment d'élevage (bergerie).....	21
Figure 3.4 : Systèmes de ventilation et d'éclairage.....	22
Figure 3.5 : Speculum vaginal.....	22
Figure 3.6 : Ecouvillons stériles.....	22
Figure 3.7 : Colorant May Grunwald.....	23
Figure 3.8 : Colorant Giemsa.....	23
Figure 3.9 : Lames numérotées.....	23
Figure 3.10 : Microscope optique.....	23
Figure 3.11 : Outils de prélèvements sanguins.....	24

Figure 3.12 : Centrifugeuse.....	24
Figure 3.13 : Portoire.....	24
Figure 3.14 : Micropipette et embouts.....	25
Figure 3.15 : Eppendorfs.....	25
Figure 3.16 : L'appareil A.I.A 360.....	25
Figure 3.17 : Réactifs ST AIA-PACK PROG.....	25
Figure 3.18 : Les femelles sélectionnées.....	26
Figure 3.19 : Matériels utilisés pour les colorations.....	27
Figure 3.20 : Dosage de la progestérone sérique.....	28
Figure 3.21 : Schéma illustrant les composantes de la cupule.....	28
Figure 3.22 : Réactif ST AIA-PACK PROG.....	29
Figure 3.23 : Variation du taux des différentes populations cellulaires de la chèvre 01.....	29
Figure 3.24 : Concentration de la progestérone sérique de la chèvre 01.....	30
Figure 3.25 : Variation du taux des différentes populations cellulaires de la chèvre 02.....	32
Figure 3.26 : Concentration de la progestérone sérique de la chèvre 02.....	32
Figure 3.27 : Variation du taux des différentes populations cellulaires de la chèvre 03.....	33
Figure 3.28 : Concentration de la progestérone sérique de la chèvre 03.....	34
Figure 3.29 : Variation du taux des différentes populations cellulaires de la chèvre 04.....	35
Figure 3.30 : Concentration de la progestérone sérique de la chèvre 04.....	35
Figure 3.31 : Lame d'un frottis montrant une cellule metœstrale.....	36
Figure 3.32 : Lame d'un frottis montrant des populations cellulaires de type intermédiaire.....	37
Figure 3.33 : Lame d'un frottis montrant des cellules de type parabasale.....	37
Figure 3.34 : Cellule superficielle anucléée.....	37

Liste des tableaux

Tableau 2.1 : Nombre et fréquence des prélèvements nécessaires pour définir l'état physiologique d'une femelle par estimation des niveaux de progestérone plasmatique ou sérique.....	17
Tableau 2.2 : Niveau de progestérone plasmatique périphérique et état physiologique d'une femelle.....	18
Tableau 2.3 : Evolution de la composition cellulaire d'un frottis vaginal autour de l'ovulation (Noakes, 2001 ; Tamboura et Sawadog, 1998).....	20
Tableau 3.1 : Résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 01.....	29
Tableau 3.2 : Résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 02.....	31
Tableau 3.3 : Résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 03.....	33
Tableau 3.4 : Résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 04.....	35

Liste des abréviations

ENSV : École Nationale Supérieure Vétérinaire

MGG : May-Grünwald- Giemsa

P4 : Progestérone

RIA : Radio-Immuno-Assay

EIA : Enzyme-Immuno-Assay

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

AIA : Automatized Immunoassay Analyzer

mn : minute

ml : millilitre

ng : nanogramme

C° : Celsius

% : Pourcentage

Introduction

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 telles que l'insémination artificielle et le transfert embryonnaire, pour cela il faut une très grande maîtrise de l'anatomophysiologie et le fonctionnement reproductif chez de l'espèce caprine.

Parmi les différents paramètres du cycle sexuel chez la chèvre, l'intervalle entre la mise bas et le premier œstrus post-partum est un trait important qui contribue à l'efficacité productive. Le post-partum est défini comme étant la période qui suit immédiatement la mise-bas et au cours de laquelle aucun œstrus normal ne se manifeste. De durée variable, il prend fin avec le retour des cycles ovariens physiologiques et comportementaux normaux.

Sur le plan endocrinien, les concentrations des hormones sexuelles sont à leurs taux le plus bas, dès que la fonction sexuelle reprend sous l'effet de la mélatonine (sécritée 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 deux types de phases (folliculaire et lutéale) de l'œstradiol ou de la progestérone. (Chemineau, 1998)

Ces deux hormones agissent entre autres 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 de la progestérone sérique. (Perez et al., 1999).

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

En vue de peu d'études réalisées sur les caractéristiques de la variation saisonnière du cycle sexuel des chèvres élevées en Algérie, ce présent travail a pour objectif principal d'étudier la cyclicité par la cytologie vaginale et le dosage hormonal durant le post-partum chez la chèvre autochtone élevée dans nos conditions climatiques locales.

Partie bibliographique

CHAPITRE 01 :

**Cytologie de la muqueuse vaginale au
cours du cycle sexuel**

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. La musculature 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).

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).

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).

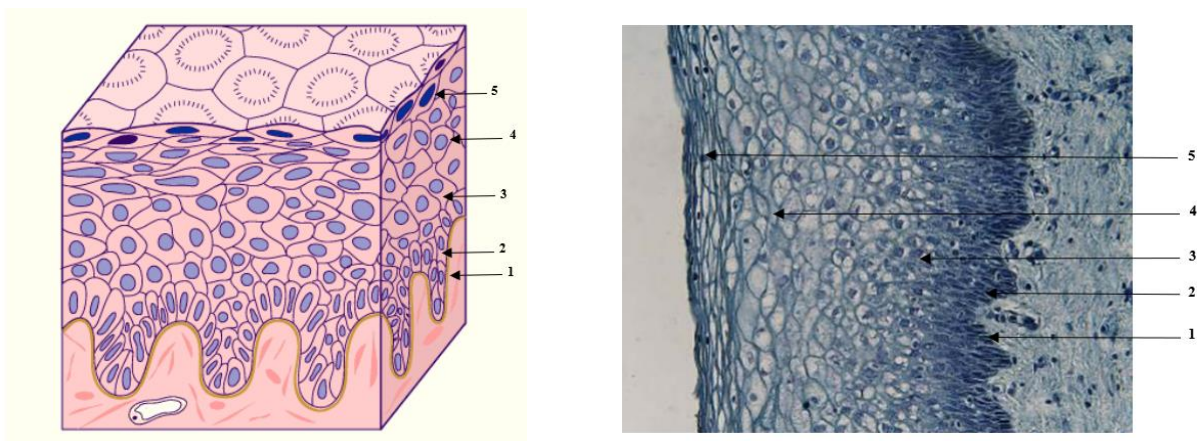


Figure 1.1 : Épithélium pavimenteux non kératinisé pluristratifié. (Kohler,2011)

1 : Lame basale ; 2 : Cellule germinative ; 3 : Cellule parabasale.

4 : Cellule intermédiaire ; 5 : Cellule superficielle.

1.2. Les Différents types de cellules de la muqueuse vaginale

La muqueuse vaginale est constituée d'un épithélium qui est de type stratifié pavimenteux non kératinisé ou appelé aussi épithélium malpighien, il est composé d'une couche de cellules prolifératives qui ont pour nom « cellules basales », attachées à la lame basale, responsables de la multiplication cellulaire. On ne les rencontre presque jamais sur les frottis vaginaux (Concannon et Digregorio, 1986).

De la couche la plus profonde vers la lumière vaginale, on trouve successivement des **cellules parabasales**, des **cellules intermédiaires** (issues de la différenciation des cellules parabasales), puis des **cellules superficielles**.

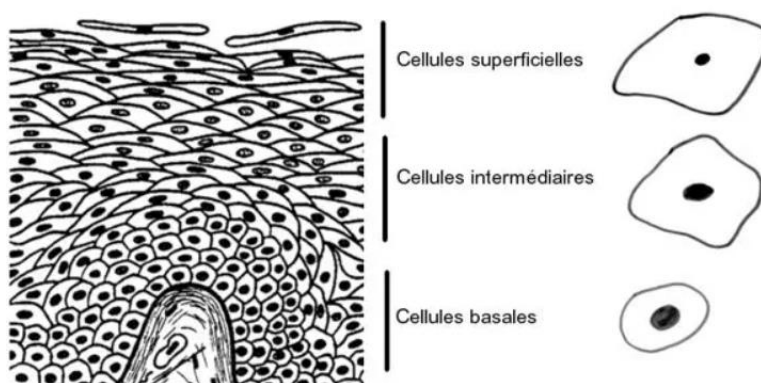


Figure 1.2 : Coupe histologique de la muqueuse vaginale.

1.2.1. 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).

1.2.2. Cellules parabasales

Ce sont les cellules les plus profondes de l'épithélium vaginal qu'on peut visualiser sur un frottis vaginal.

Elles sont de petite taille, environ 10 à 20 μm de diamètre, et de forme ronde. 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).

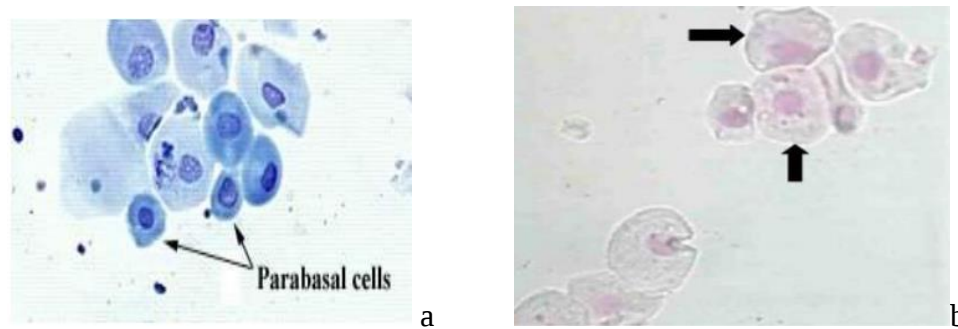


Figure 1.3 : Cellules parabasales.(a: Bowen, 2000) (b :Gogny et Fieni 2016)

1.2.3. Cellules intermédiaires

Elles font en général deux fois la taille d'une cellule parabasale avec un noyau de la même taille. Ces cellules subissent la première étape qui conduit à la mort cellulaire. Il existe de très grandes variations de taille et de forme car elles représentent toutes les étapes de maturation entre l'état parabasal et l'état « superficiel » (Vaughan, 1996). Chez cette catégorie de cellules deux sous-types ont été définis.

1.2.3.1. Les petites cellules intermédiaires

Ce sont les cellules en croissance. Elles assurent la transition entre les parabasales sphériques et les cellules plus larges, plus anguleuses qu'elles deviendront au fur et à mesure qu'elles s'éloigneront des couches les plus profondes (Feldman et Nelson, 1996).

Leur diamètre est supérieur à 20µm et leur forme varie de rond à anguleux. (Rick et al., 2006).

Le noyau est encore bien rond et bien visible. Son diamètre représente de 30 à 35 % de celui de la cellule (figure 1.4) (Concannon et Digregorio, 1987).

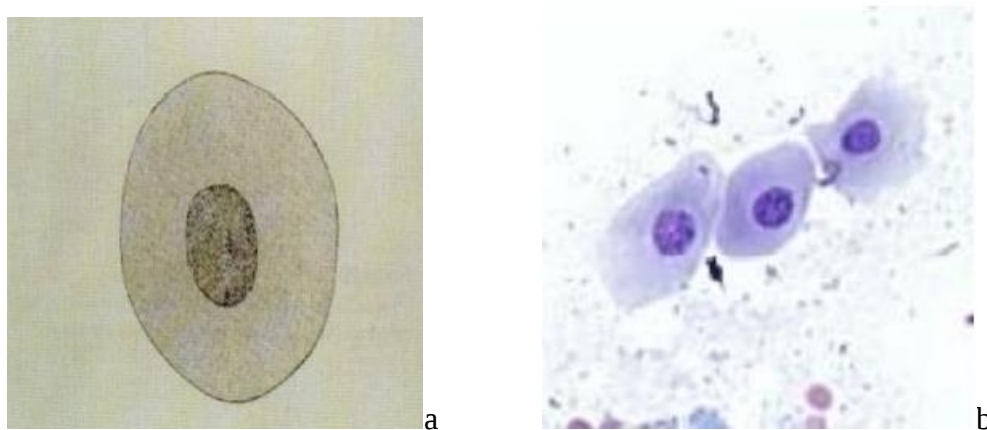


Figure 1.4 : Petites cellules intermédiaires (a : Rick et al.,2006) , b : (Bowen, 2000)

1.2.3.2. Les grandes cellules intermédiaires

Elles représentent l'étape intermédiaire entre les plus grandes des petites cellules intermédiaires, d'aspect globalement régulier, et les cellules superficielles, squameuses et irrégulières. Leur diamètre est supérieur à 30µm (Johnston et al., 2001).

Elles sont plates. Leur contour est anguleux (figure 1.5).

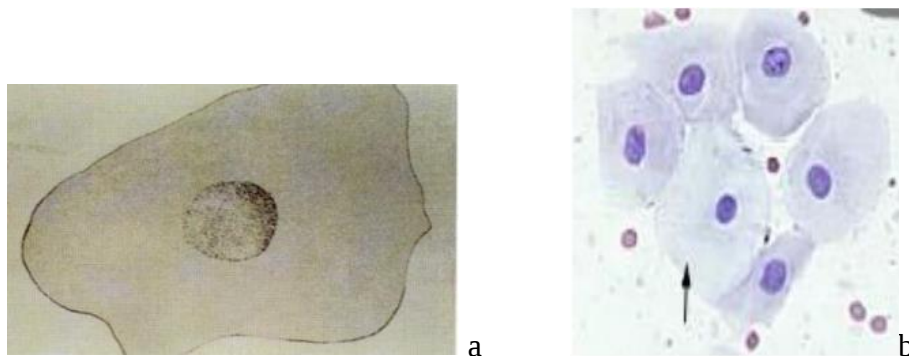


Figure 1.5 : Grande cellule intermédiaire (a: Rick et al., 2006) , b : (Bowen, 2000)

Le noyau est de taille normale, visible et encore fonctionnel (Johnston et al., 2001). En effet, elles représentent « la frontière » entre les couches cellulaires qui ont accès aux nutriments et celles trop éloignées de la lame basale pour pouvoir assurer une fonction nucléaire correcte.

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).

1.2.4. Cellules superficielles

Appelées cellules kératinisées, Elles sont nommées « superficielle » en raison de leur position au sein de l'épithélium vaginal.

Il s'agit des plus grandes des cellules vaginales ; leur diamètre est compris entre 30 et 75 µm.

Au contraire de ces dernières, le noyau est pycnotique, absent, ou on ne peut distinguer que sa silhouette (Vaughan, 1996).

Le phénomène de kératinisation est lié à la dégénérescence qui transforme les cellules d'un épithélium malpighien en cellules mortes. Ceci est reflété par la pycnose nucléaire (Guyant, 1988).

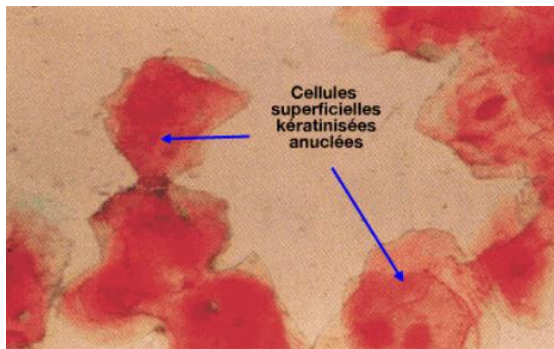


Figure 1.6 : Cellules superficielles (microscope optique) (Dumon 2009)

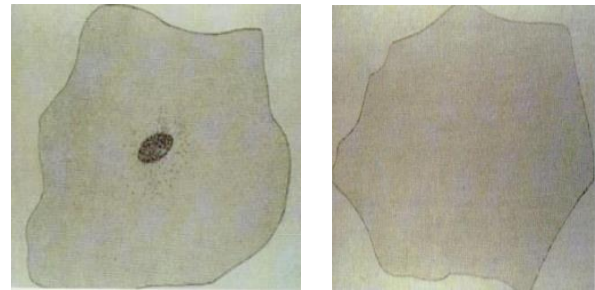


Figure 1.7 : Cellules superficielles (avec noyau pycnotique ou bien anuclées) (Rick et al., 2006)

1.2.5. Cellules métœstrales

Ce sont de grandes cellules intermédiaires présentant un ou plusieurs granulocytes neutrophiles dans leur cytoplasme (Figure 1.8). Ces cellules sont observées lors du métœstrus 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 métœstrus (Johnston et al., 2001)

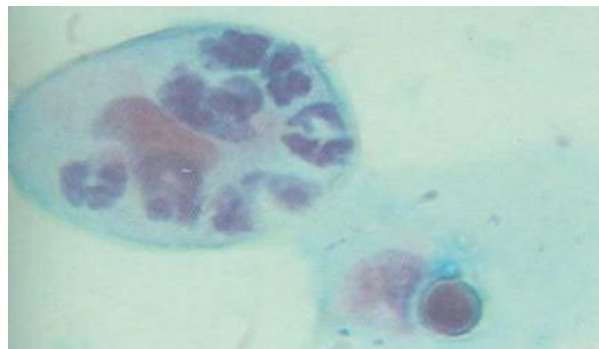


Figure 1.8 : Cellules métœstrales (Mialot, 1984)

1.2.6. Les cellules spumeuses ou « foamcells »

Ce sont des cellules parabasales ou intermédiaires présentant des vacuoles cytoplasmiques (Figure 1.9). Les cellules spumeuses peuvent être observées lors du métœstrus ou de l'anœstrus (Johnston et al., 2001).

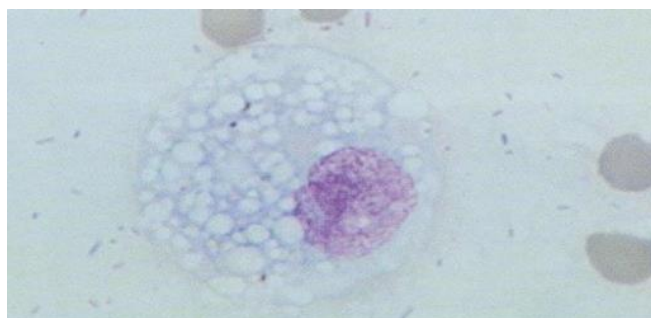


Figure 1.9 : Cellule spumeuse colorée au May-Grünwald-Giemsa au grossissement 1000 (Johnston et al., 2001)

1.2.7. Cellules superficielles contenant des corps cytoplasmiques

Ces cellules contiennent des inclusions cytoplasmiques sombres (Figure 1.10). 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 petites tailles et elles sont localisées en position extracellulaire (Johnston et al., 2001).

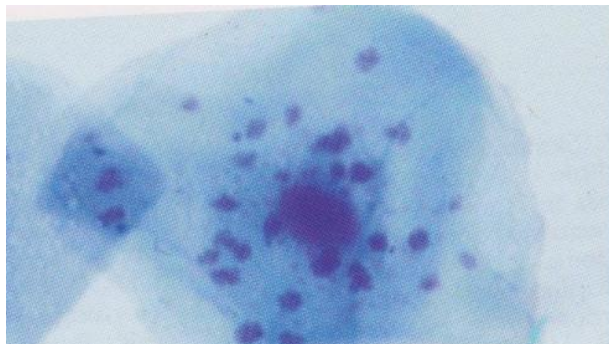


Figure 1.10 : Cellule superficielle présentant des corps cytoplasmiques colorée au May-Grünwald- Giemsa au grossissement 1000 (Johnston et al., 2001)

1.2.8. 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 1.11)

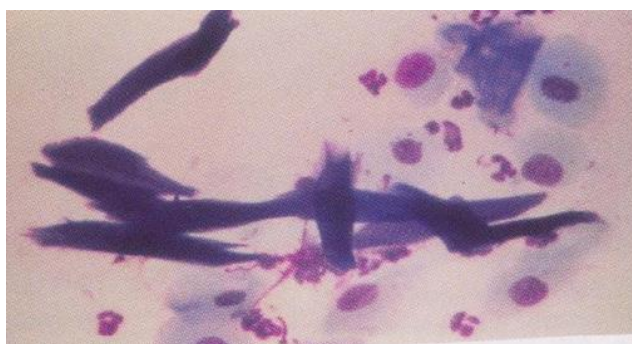


Figure 1.11 : Cellules clitoridiennes colorées au May-Grünwald-Giemsa au grossissement 400 (Johnston et al., 2001)

En résumé, les différents types de cellules épithéliales qui peuvent être rencontrées sur les frottis vaginaux sont illustrées sur la figure 1.12

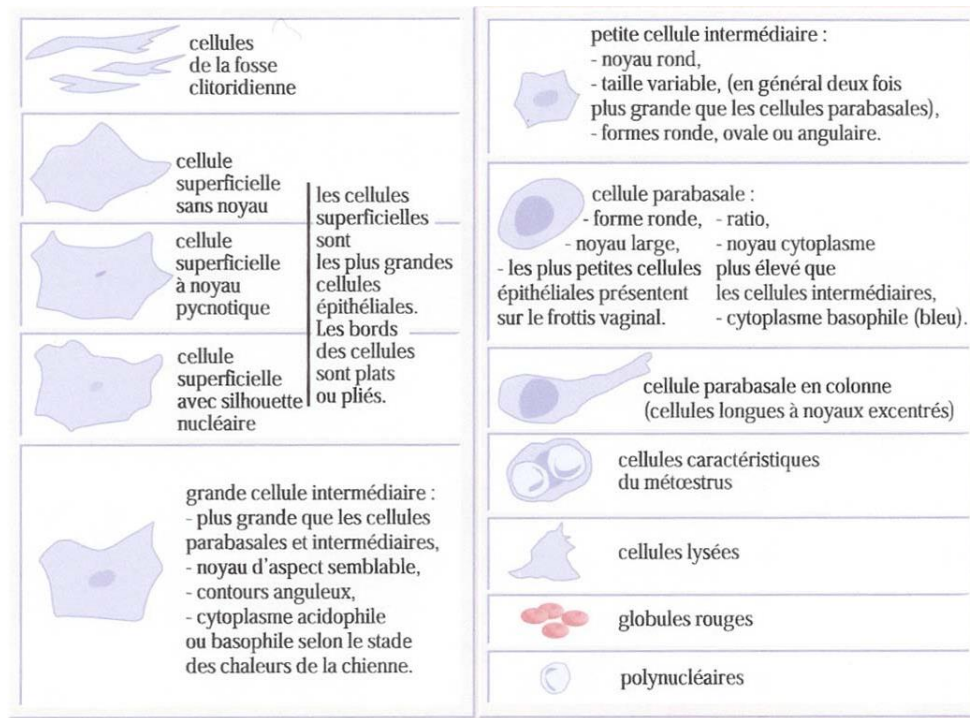


Figure 1.12 : Les cellules du frottis vaginal (Neuveux, 1999).

1.3. Effet hormonal sur la muqueuse vaginale

L'épithélium vaginal est hormono-dépendant et par conséquent soumis à des variations cycliques (Wolfgang, 1995).

Différentes études ont montré l'existence de 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 apparents chez cette espèce.

Ce modèle de l'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 à l'œstrus (Hulet et Shelton, 1980).

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. La progestérone lors de son administration sur une muqueuse vaginale atrophique provoque l'apparition de placards de cellules cyanophiles intermédiaires riches en glycogène (Heber, 1975).

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

Les cellules intermédiaires et parabasales sont présentées en plus grandes quantités pendant la phase lutéale lorsque c'est la progestérone qui domine. Les cellules superficielles sont le résultat de l'augmentation d'œstrogène périphérique qui cause la maturation des cellules vaginales et l'épaississement de la muqueuse.

L'augmentation importante de l'œstrogène influence l'épaisseur de l'épithélium vaginale en entraînant une prolifération importante des cellules basales, et intermédiaires. Elle provoque aussi une maturation marquée des cellules superficielles dont le noyau devient pycnotique, et une prédominance des cellules superficielles éosinophiles desquamées en cellules isolées.

1.4. Modifications cytologiques de la muqueuse vaginale au cours du cycle sexuel

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. A l'inverse, les femelles dont le vagin est plutôt sec et pâle ne sont probablement pas en chaleur (Gastonguay, 2000).

1.4.1. Anœstrus

C'est la phase de repos sexuel. Les hormones sexuelles circulent à leur niveau le plus bas dans le sang, la plupart des cellules existe dans cette période, ce sont les cellules basales et parabasales. Le frottis d'anœstrus 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)

1.4.2. Phase folliculaire ou œstrogénique

1.4.2.1. Prœstrus

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 signalant 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 œstrogènes 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 præstrus ; 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 metœstrus (Feldman et Nelson, 1996).

En fin de præstrus, 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).

1.4.2.2. 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).

1.4.3. Phase lutéale ou Progestéronique

1.4.3.1. Metœstrus

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

1.4.3.2. Diœstrus

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 » (Gompel, 1982).

1.5. Frottis vaginaux

1.5.1. 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).

1.5.1.1. 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).

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).



Figure 1.13 : Ecouvillonnage et prélèvement vulvaire (a :Nicol, 2019 ; b :Crémoux et al., 2014)

1.5.1.2.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).

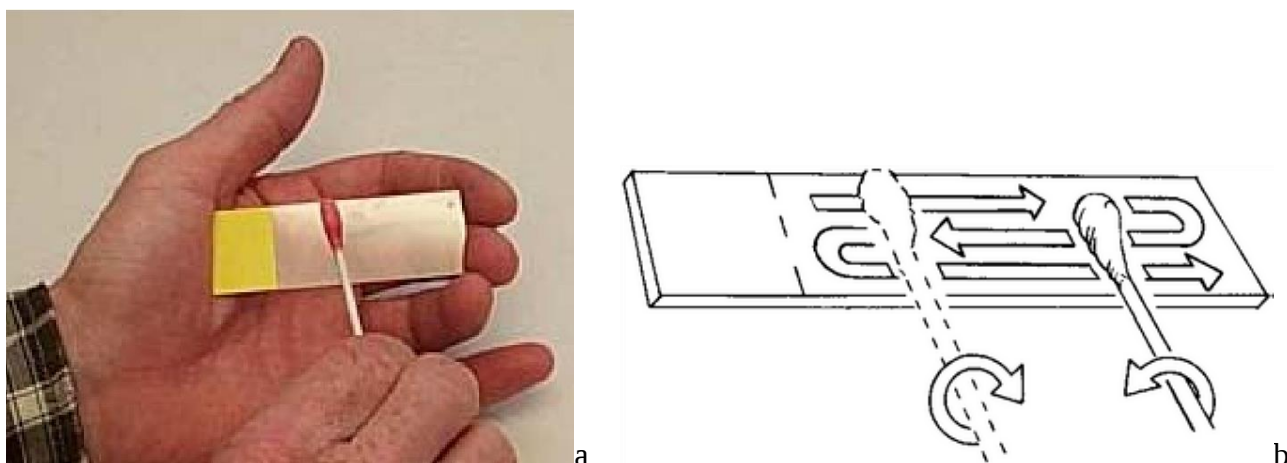


Figure 1.14 : Technique d'étalement d'un prélèvement sur une lame
(a : Semantic Scholar, 2005 ; b : Microbiologie clinique, 2012)

1.5.1.3.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).

1.5.2. Coloration du Frottis

Différents types de colorations peuvent être utilisés pour un frottis vaginal.

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

1.5.2.2. 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 quelque 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 (Isolation by Size Of Epithelial Tumor cells) (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, 1902), 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, 1902) 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 deviennent « verdâtres, puis jaunâtres et finalement orangées ou rosées », la décoloration prend une 1 à 3 minutes et l'eau de rinçage résultant de la décoloration est bleue (Wright, 1902).



Figure 1.15 : Kit de coloration MGG.

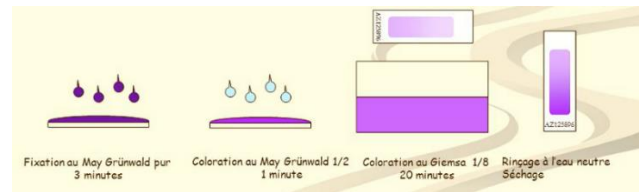


Figure 1.16 : Les étapes de coloration MGG.

1.5.2.3. 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).



Figure 1.17 : Colorant Harris-Shorr.

1.5.2.4. 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 1.18 : Colorants utilisés dans la coloration Papanicolaou

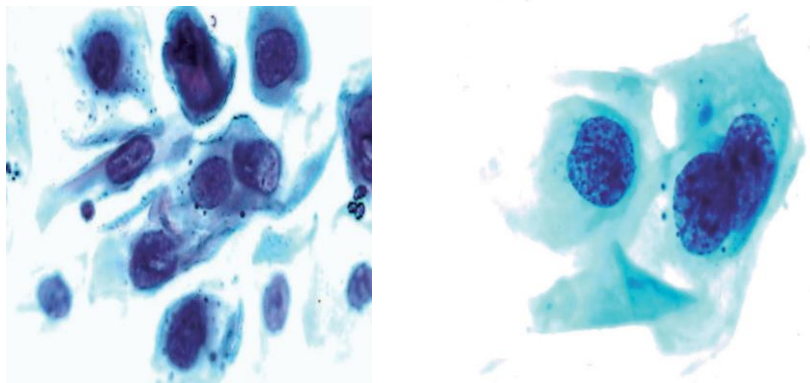


Figure 1.19 : frottis vaginal coloré avec la technique Papanicolaou.

1.6. Observation au microscope

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

Le faible grossissement a pour but d'apprécier globalement la richesse en cellules, la présence ou non de cellules inflammatoires, la présence ou non de mucus, la présence ou non de spermatozoïdes, ainsi que la répartition des cellules dispersées, isolées ou en amas.

Le fort grossissement permet de voir 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).

CHAPITRE 02 :

**Variation de la progestérone sérique au
cours du cycle sexuel**

2.1. Généralités

Chez les caprins, comme dans la plupart des espèces, l'expression du comportement sexuel dépend à la fois de facteurs internes notamment le taux d'hormones stéroïdes, et externes comme les facteurs environnementaux. Chez le mâle, le niveau d'activité sexuelle fluctue au cours de l'année en liaison avec le taux de testostérone. Cependant, cette dépendance est plus limitée que dans d'autres espèces et peut être modulée par l'environnement social : présence d'un congénère, exposition régulière à des femelles réceptives, etc.

Le comportement sexuel de la chèvre, comme celui de la brebis, dépend de la présence cyclique de progestérone et d'œstradiol. Le seuil de sensibilité à ces hormones est peu différent de celui des ovins. Comme chez les ovins, la progestérone possède à la fois un effet inhibiteur, à l'origine des traitements de synchronisation de l'œstrus, et un rôle facilitateur, celui-ci étant moins net que chez les ovins. Les chèvres comme les boucs sont très sensibles à l'effet de l'environnement social qui peut être utilisé comme moyen de manipuler le cycle reproductif (effet mâle pendant la période d'anœstrus par exemple).

La maîtrise de la reproduction dans le troupeau nécessite de connaître les différents états physiologiques des femelles, ainsi l'observation seule est insuffisante pour une maîtrise adéquate des paramètres de reproduction.

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

2.2. Variation du taux de progestérone en fonction de l'état physiologique

Le dosage de la progestérone dans un prélèvement sanguin réalisé à un moment quelconque, chez une femelle dont l'état physiologique est inconnu ne permet pas de conclure quant à son état physiologique (tableau 2.1). Il existe toutefois une exception, l'analyse du niveau de progestérone dans un prélèvement réalisé environ un cycle après une insémination naturelle ou artificielle permet de savoir si la femelle est non gravide ou si elle est susceptible d'être gravide (tableau 2.1).

Ce tableau ci-dessous

Tableau 2.1 : Nombre et fréquence des prélèvements nécessaires pour définir l'état physiologique d'une femelle par estimation des niveaux de progestérone plasmatique ou sérique. (Thimonier, 2000)

Catégorie	Femelle	Intervalle entre deux prélèvement consécutifs	Nombre	Niveau de progestérone lors des prélèvements					Etat physiologique
				1	2	3	4	5	
Femelles non inséminées	Brebis	8 à 11 jours	2	—	—				Anovulatoire
	Chèvre			—	+				Cyclique
				+	—				
Femelles Ayant pu être inséminées	Brebis	4 à 5 jours	2 (minimum) à 5 (maximum)	—	—	—	—	—	Anovulatoire
	Chèvre			—	—	+	+	±	Cyclique
				—	+	+	±	—	
				+	+	+	+	+	Gravide
				+	+	+	+	—	Cyclique
				+	+	+	—	±	
				+	+	—	±	+	
				+	—	±	+	+	

- Le signe (+) signifie que le test est positif, c'est-à-dire que le taux de progestérone de la chèvre concernée, est supérieur au seuil (1 ng/ml).
- Le signe (—) signifie que le test est négatif, c'est-à-dire que le taux de progestérone de la chèvre concernée, est inférieur au seuil (1 ng/ml).
- Le signe (±) signifie que le taux de progestérone se rapproche du seuil (1 ng/ml).

Remarque :

- ✓ Trois prélèvements négatifs sont nécessaires pour caractériser l'anœstrus anovulatoire.
- ✓ Cinq prélèvements positifs sont nécessaires pour confirmer la gestation.
- ✓ Pour les femelles confirmées gravides, il peut y avoir une éventuelle pseudo-gestation (présence d'un corps jaune persistant).

En pro-œstrus, les follicules pré ovulatoires commencent à synthétiser et 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).

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 (Concannon, 2002).

Tableau 2.2 : Niveau de progestérone plasmatique périphérique et état physiologique d'une femelle.
(Thimonier, 2000)

Moment du prélèvement	Niveau de progestérone	Femelle	Etat physiologique
Quelconque	> 1 ng/ml	Brebis, <u>chèvre</u> ...	Cyclique (phase lutéale) ou gravide
	< 1 ng/ml	Brebis, <u>chèvre</u> ...	Cyclique (période péri-ovulatoire) ou anœstrus
Un cycle après insemination	< 1 ng/ml	Brebis, <u>chèvre</u> ...	Non gravide
	> 1 ng/ml	Brebis, <u>chèvre</u> ...	Gravide

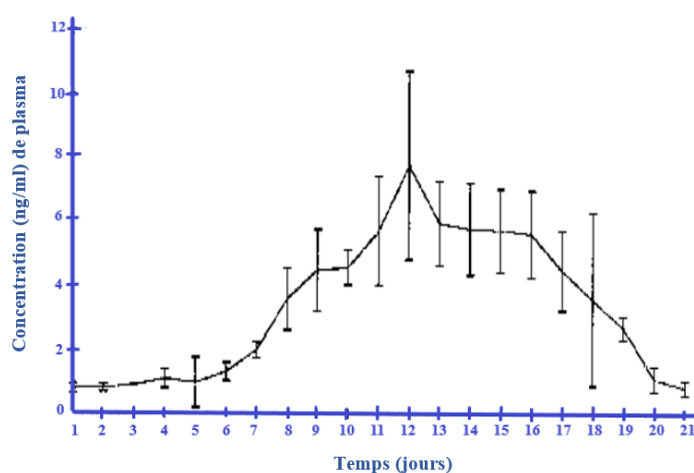


Figure 2.1 : Concentration plasmatique moyenne de progestérone durant le cycle œstral chez la chèvre (Tamboura et Sawadog, 1998).

2.3. 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 postériori, 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).

2.3.1. Méthodes quantitatives

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

2.3.1.1. Méthodes immuno-enzymatique

Les techniques immuno-enzymatiques (EIA), principalement l'ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) et la chimi-luminescence, 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-chimi-luminescence 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).

2.3.1.2. 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).

2.3.2. Méthodes semi quantitatives

Le dosage semi quantitatif par méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) repose sur 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.
- à 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).

2.4. Variation de la concentration de la progestérone et de la cytologie vaginal durant le cycle sexuel

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).

Tableau 2.3 : Evolution de la composition cellulaire d'un frottis vaginal autour de l'ovulation (Noakes, 2001 ; Tamboura et Sawadog, 1998).

Type de cellules / Hormone	Début d'oestrus	Fin d'oestrus (ovulation)	Début metoestrus
Progestérone	< 0.9 ng/ml	< 0.9 ng/ml	> 1 ng/ml
Cellules parabasales	—	±	++
Petites cellules intermédiaires	—	±	++
Grandes cellules intermédiaires	—	±	++
Cellules superficielles	++	+	±
Cellules anucléées kératinisées	++++	±	—
Neutrophiles (leucocytes)	—	+	+++

Partie expérimentale

CHAPITRE 03 :

**La cytologie vaginale et le dosage de la
progestérone sérique en post-partum**

3.1. Objectif

Cette expérimentation a pour objectif principal, à travers la cytologie vaginale et le dosage sérique de la progestérone, d'évaluer l'activité sexuelle des chèvres de race locale en post-partum au niveau de la ferme expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire.

3.2. Situation géographique de la région d'étude

L'étude expérimentale s'est déroulée dans la Wilaya d'Alger au niveau de la ferme expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire « RABIE BOUCHAMA », située à El Alia-Oued Smar, à 14km à l'est d'Alger.



Figure 3.1 : Localisation de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV).

3.3. Matériels

3.3.1. Bergerie

- Constituée d'un troupeau d'ovins (37 têtes) et caprins (25 têtes dont 02 boucs, 16 chèvres et 07 chevreaux).



Figure 3.2 : Animaux de la bergerie. (photo personnelle)

- Le bâtiment d'élevage est divisé en trois grands compartiments dont un utilisé spécialement pour les femelles gestantes et les femelles allaitantes.



Figure 3.3 : Bâtiment d'élevage (bergerie). (photos personnelles)

- La ventilation utilisée au niveau de la bergerie est de type Statique et dynamique (extracteur d'air).
- L'éclairage est assuré par la présence de fenêtre et l'utilisation de lumière artificielle.



Figure 3.4 : Systèmes de ventilation et d'éclairage. (photo personnelle)

3.3.2. Frottis Vaginaux

- Speculum vaginal : écarte les lèvres vulvaires et facilite le passage de l'écouvillon ce qui permet d'éviter d'avoir de faux résultats dû à un mauvais prélèvement (par présence de cellules clitoridiennes).



Figure 3.5 : Speculum vaginal. (photo personnelle)

- Écouvillons stériles : utilisés pour la réalisation du prélèvement vaginal.



Figure 3.6 : Ecouvillons stériles. (photo personnelle)

- Désinfectant et lubrifiant : pour éviter les lésions (lors de l'introduction du speculum) et les infections.

- Coloration May Grunwald Giemsa et sérum physiologique.

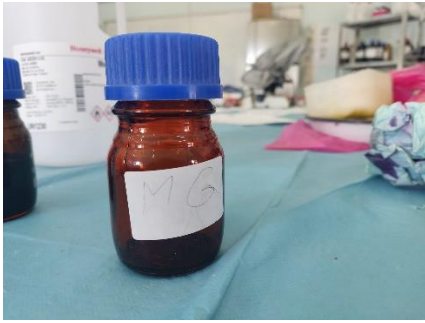


Figure 3.7 : Colorant May Grunwald.



Figure 3.8 : Colorant Giemsa.

(photos personnelle)

- Chronomètre.
- Lames numérotées.



Figure 3.9 : Lames numérotées. (photo personnelle)

- Microscope optique « Marque LEICA ».



Figure 3.10 : Microscope optique. (photos personnelles)

3.3.3. Dosage Hormonal

- Aiguilles et Tubes vacutainer secs étiquetés : Pour la récolte rapide du sang.



Figure 3.11 : Outils de prélèvements sanguins. (photos personnelles)

- Gants et antiseptique : pour des raisons d'hygiène et de protection.
- Centrifugeuse : pour séparer le sérum des éléments figurés du sang.



Figure 3.12 : Centrifugeuse. (photos personnelles)

- Portoire.



Figure 3.13 : Portoire. (photos personnelles)

- Micropipette et embouts : sert à prélever le sérum après la centrifugation.



Figure 3.14 : Micropipette et embouts. (photo personnelle)

- Eppendorfs numérotés : conçu pour le stockage du sérum prélevé.



Figure 3.15 : Eppendorfs. (photo personnelle)

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



Figure 3.16 : L'appareil A.I.A 360.



Figure 3.17 : Réactifs ST AIA-PACK PROG.

(photos personnelles)

3.4. Méthodes

3.4.1. Identification et diagnostic de gestation

- Dans un premier temps on procède à l'identification des femelles et l'élimination des chèvres gravides à l'aide d'un diagnostic de gestation par échographie (WED 3000).
- En second lieu : quatre (04) femelles sont sélectionnées.



Figure 3.18 : Les femelles sélectionnées. (photos personnelles)

3.4.2. Frottis Vaginaux

Pour la réalisation d'un frottis vaginal, une contention au préalable est effectuée par l'éleveur, on inspecte d'abord le comportement de la chèvre ainsi que l'appareil génital externe (son aspect et la présence sécrétions anormales), qui peuvent nous renseigner sur le stade du cycle ou bien la présence d'éventuelles infections.

On commence par 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 et permet aussi d'éviter 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 (col de l'utérus)

Une fois l'écouvillon à l'intérieure du vagin, on fait quelques rotations contre la paroi vaginale sans appuyer ou forcer trop fort (risque d'avoir des cellules basales ou léser la muqueuse vaginal).

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.

L'écouvillon est roulé sur une lame propre et étiquetée sans frottement pour ne pas provoquer l'éclatement des cellules, ensuite on passe à la fixation et la coloration des lames.

3.4.3. Colorations et l'observation au Microscope

La coloration MGG se déroule en quelques étapes :

- Fixation au méthanol (dure environ 5 min).
- Première coloration au May Grunwald (qui permet d'éviter l'apoptose des cellules) (10 min).
- Rinçage à l'eau distillée.
- Seconde coloration à l'aide du colorant Giemsa (en 30 min).
- Rinçage et séchage des lames.

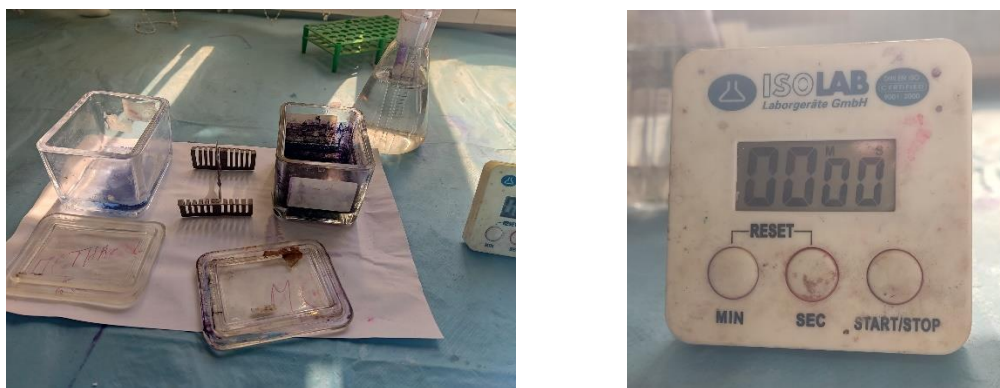


Figure 3.19 : Matériels utilisés pour les colorations. (photos personnelles)

A la fin, après avoir fini la coloration et les lames sont bien séchées on passe à l'observation à l'aide d'un microscopique photonique, d'abord au grossissement (x10) où on effectue un balayage de toute la lame pour voir la richesse en cellules et leurs dispositions et avoir une idée sur le stade, 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 indispensables pour l'identification du type cellulaire.

La lecture se fait en balayant toute la lame et en observant un maximum de champs.

3.4.4. Prélèvement sanguin

Après une contention par l'éleveur, et suite au frottis vaginal, le sang est prélevé au niveau des veines jugulaires en utilisant des tubes secs vacutainers. Ensuite on centrifuge le sang à l'aide d'une centrifugeuse (3000 tours/min pendant 10 min) pour séparer le sérum des éléments figurés de sang qui sera prélevé à l'aide d'une micropipette puis déposer dans des Eppendorfs et les conserver immédiatement à -20°C jusqu'au moment du dosage hormonal.

Le dosage de la progestérone est réalisé à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) au niveau du laboratoire de Reproduction, il est effectué en utilisant 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 fluorogénique, phosphate de 4-methylumbelliferyl. 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.

Si le taux progestérone sérique est supérieur ou égal à 1 ng/ml (Progésteronémie $\geq$ 1ng/ml) cela veut dire qu'il y'a présence d'une activité lutéale (d'après le mode d'emploi de l'appareil AIA).



Figure 3.20 : Dosage de la progestérone sérique. (photos personnelles)

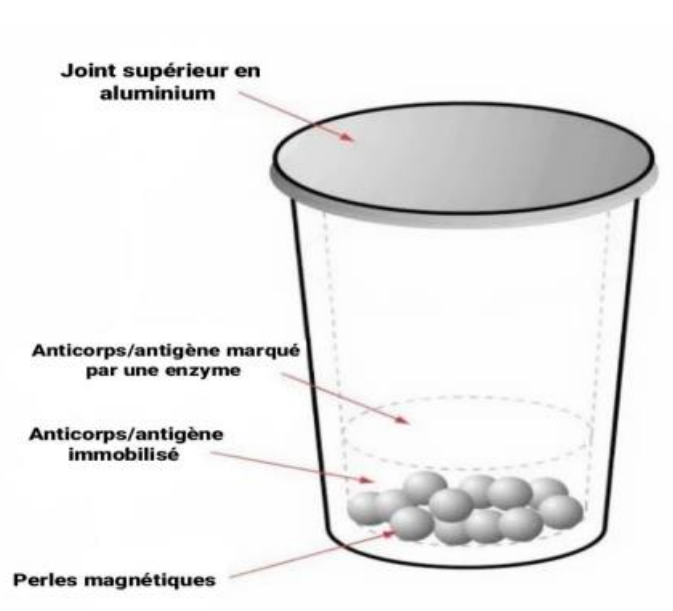


Figure 3.21 : Schéma illustrant les composantes de la cupule.



Figure 3.22 : Réactif ST AIA-PACK PROG.

3.5. Résultats

➤ Chèvre 01 « N° d'identification : 6828 »

Tableau 3.1 : Résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 01.

	Cytologie vaginale				Profil hormonal
	Cellules Parabasales	Cellules intermédiaires	Cellules Superficielles	Cellules Metoestrales	[Progestérone] ng/ml
16 novembre 2021	24,8 %	66,7 %	8,5 %	0 %	8,65
18 novembre 2021	38,0 %	50,2 %	11,8 %	0 %	8,99
21 novembre 2021	47,2 %	46,1 %	6,7 %	0 %	7,91
23 novembre 2021	31,3 %	38,9 %	15,1 %	14,7 %	0,33
25 novembre 2021	24,6 %	17,4 %	6,1 %	51,9 %	0,50
28 novembre 2021	42,9 %	49,1 %	8,0 %	0 %	6,83
30 novembre 2021	34,2 %	56,0 %	9,8 %	0 %	7,91
02 décembre 2021	32,5 %	55,5 %	12,0 %	0 %	10,33
05 décembre 2021	38,2 %	49,0 %	12,8 %	0 %	7,77

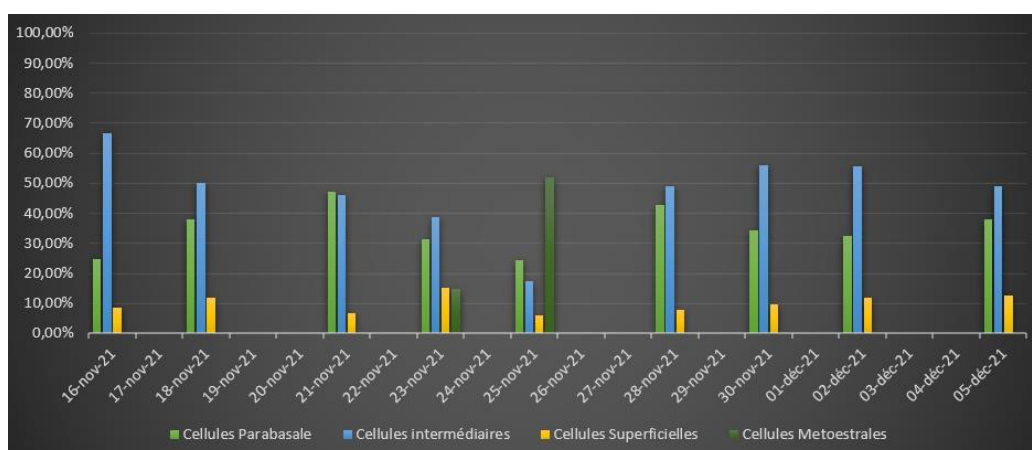


Figure 3.23 : Variation du taux des différentes populations cellulaires de la chèvre 01.

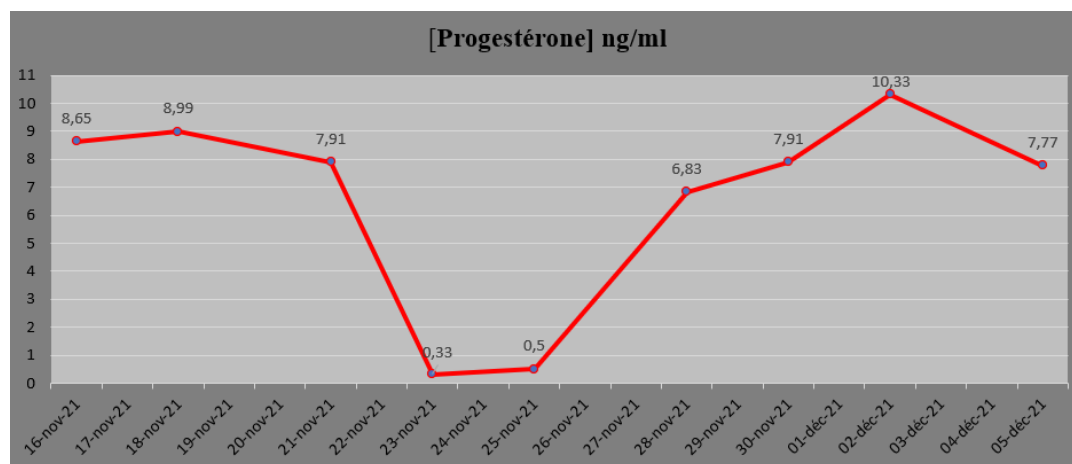


Figure 3.24 : Concentration de la progestérone sérique de la chèvre 01.

Interprétation :

Les résultats obtenus nous montrent que durant la période d'étude, il existe une variation quantitative des cellules de la muqueuse vaginale.

On remarque que lors du premier prélèvement, le nombre des cellules intermédiaire est élevé, alors que le taux des cellules parabasales et superficielles est plus faible.

En ce qui concerne les cellules metœstrales, leur taux est insignifiant.

Ensuite, on constate une augmentation du taux des cellules parabasales durant les jours suivants et une baisse progressive des populations cellulaire de type intermédiaire, alors que le nombre des cellules superficielles est relativement stable, tandis que les cellules metœstrales sont toujours absentes.

Mais en plein milieu de la période expérimentale, c'est-à-dire la période entre le 3^{ème} et le 5^{ème} prélèvement, on constate une augmentation rapide des cellules metœstrales, ce qui explique qu'à cette période, la chèvre était au début du stade lutéal, cela signifie que la femelle était en chaleurs peu de temps avant.

Entre temps, dans cette même période, on distingue une baisse continue des cellules intermédiaires, tandis que le taux des cellules parabasales et superficielles reste plus ou moins stable.

Juste après cette période, on constate une remontée du nombre des cellules intermédiaires. Contrairement aux populations cellulaires parabasales, où on observe une diminution progressive de leur nombre. On aperçoit que les cellules metœstrales ont complètement disparu.

En ce qui concerne la progestéronémie, la règle de base est que si le taux de progestérone sérique est supérieur à 1 ng/ml, cela veut dire que la femelle est en phase lutéale et si le taux est inférieur à 1 ng/ml, la femelle est en phase folliculaire ou en anœstrus.

Dans un premier temps, en s'appuyant sur les résultats obtenus, on distingue que la concentration sérique de la progestérone est très élevée au premier prélèvement, puis on observe durant la première semaine, une diminution prononcée de la progestéronémie jusqu'à arriver à un taux très bas (0,33 ng/ml le 23 novembre), ce qui signifie qu'il y a eu passage de la phase lutéale à la phase folliculaire. Par la suite entre le 23 et le 25 novembre, une légère augmentation du taux est enregistrée, mais la valeur reste toujours inférieure au seuil qui est de 1 ng/ml, ce qui explique que la femelle est en période folliculaire.

A la fin de la deuxième semaine entre le 25 novembre et le 05 décembre, on constate une hausse progressive de la progestérone sérique pour atteindre une valeur maximale de 10,33 ng/ml, donc on peut déduire dans ce cas que la femelle est en période de dioestrus (présence d'un corps jaune).

En se basant sur la présence des cellules metœstrales dans deux prélèvements successifs (le 23 et le 25 novembre) et selon la courbe hormonale, on déduit que la chèvre 01 est cyclée.

➤ **Chèvre 02 « N° d'identification : 6862 »**

Tableau 3.2 : Résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 02.

	Cytologie vaginale				Profil hormonal
	Cellules Parabasales	Cellules intermédiaires	Cellules Superficielles	Cellules Metoestrales	[Progestérone] ng/ml
16 novembre 2021	30,7%	41,5 %	10,4 %	17,4 %	1,32
18 novembre 2021	29,2 %	60,1 %	10,7 %	0 %	8,00
21 novembre 2021	33,0 %	53,4 %	13,6 %	0 %	7,85
23 novembre 2021	47,6 %	35,9 %	16,5 %	0 %	5,35
25 novembre 2021	48,1 %	37,8 %	14,1 %	0 %	6,71
28 novembre 2021	35,7 %	55,3 %	9,0 %	0 %	5,46
30 novembre 2021	40,6 %	51,8 %	7,6 %	0 %	5,08
02 décembre 2021	37,3 %	50,2 %	12,5 %	0 %	3,89
05 décembre 2021	48,9 %	39,9 %	11,2 %	0 %	3,04

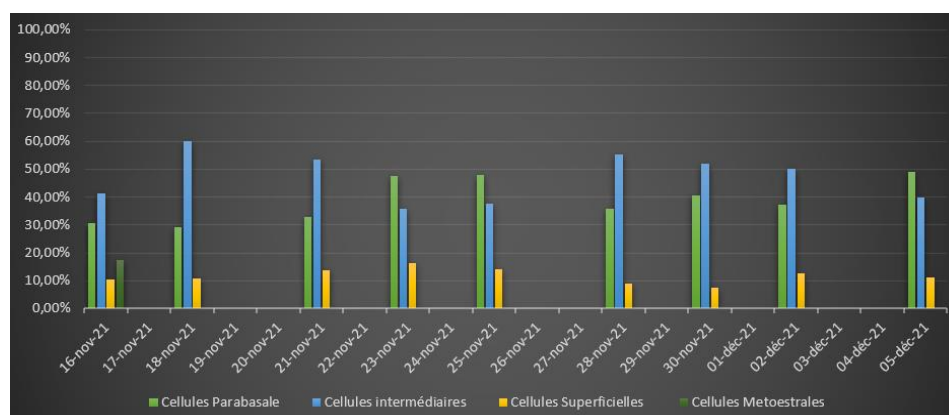


Figure 3.25 : Variation du taux des différentes populations cellulaires de la chèvre 02.

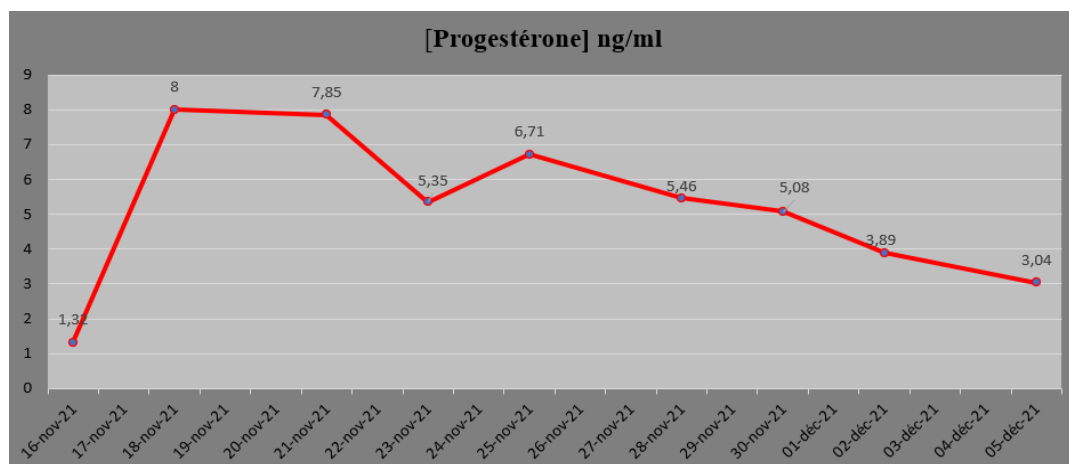


Figure 3.26 : Concentration de la progestérone sérique de la chèvre 02.

Interprétation

D'après les résultats enregistrés dans le tableau ci-dessus, on peut constater une très faible variation du taux des cellules d'un prélèvement à un autre.

Durant toute la période de l'étude (du 16 novembre au 05 décembre), on remarque la prédominance des cellules parabasales et intermédiaires par rapport aux autres cellules, ce qui indique que cette femelle est en phase lutéale.

Quant aux cellules superficielles, leur pourcentage reste faible tout le long de la période expérimentale, les cellules metœstrales sont présentes seulement dans le premier prélèvement, puis disparaissent totalement dans les jours suivants, ce qui veut dire que la femelle était en œstrus avant de commencer notre étude.

Pour le cas de progestéronémie, on se basant sur les résultats enregistrés dans le tableau ci-dessus et la courbe de variation de la concentration sérique de la progestérone, on distingue que le taux de P4 varie tout le long de l'étude, mais reste toujours supérieur au seuil qui est de 1 ng/ml.

Au deuxième prélèvement, on constate une augmentation brusque de la progestérone (du 16 au 18 novembre).

A partir de ces résultats on peut déduire qu'il s'agit soit d'une pseudo-gestation, soit la persistance du corps jaune d'origine pathologique.

➤ Chèvre 03 « N° d'identification : 6864 »

Tableau 3.3 : Résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 03.

	Cytologie vaginale				Profil hormonal
	Cellules Parabasales	Cellules intermédiaires	Cellules Superficielles	Cellules Metoestrales	[Progestérone] ng/ml
16 novembre 2021	40,6 %	48,0 %	11,4 %	0 %	6,99
18 novembre 2021	39,0 %	51,8 %	9,2 %	0 %	8,00
21 novembre 2021	37,8 %	46,9 %	15,3 %	0 %	11,35
23 novembre 2021	49,5 %	43,2 %	7,3 %	0 %	7,96
25 novembre 2021	54,1 %	37,4 %	8,5 %	0 %	5,46
28 novembre 2021	38,6 %	33,5 %	10 %	17,9 %	0,98
30 novembre 2021	22,2 %	19,1 %	10,4 %	48,3 %	0,41
02 décembre 2021	37,4 %	50,9 %	11,7 %	0 %	4,25
05 décembre 2021	31,7 %	54,8 %	13,5 %	0 %	7,62

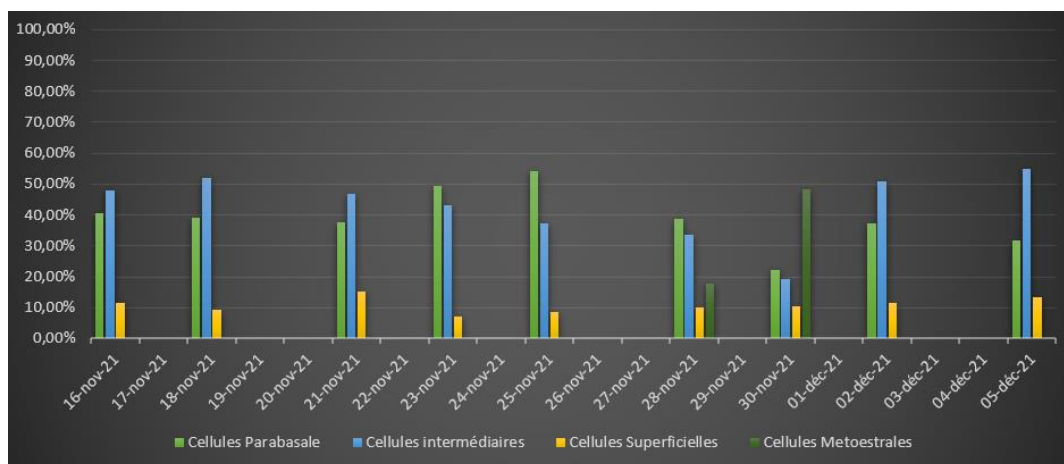


Figure 3.27 : Variation du taux des différentes populations cellulaires de la chèvre 03.

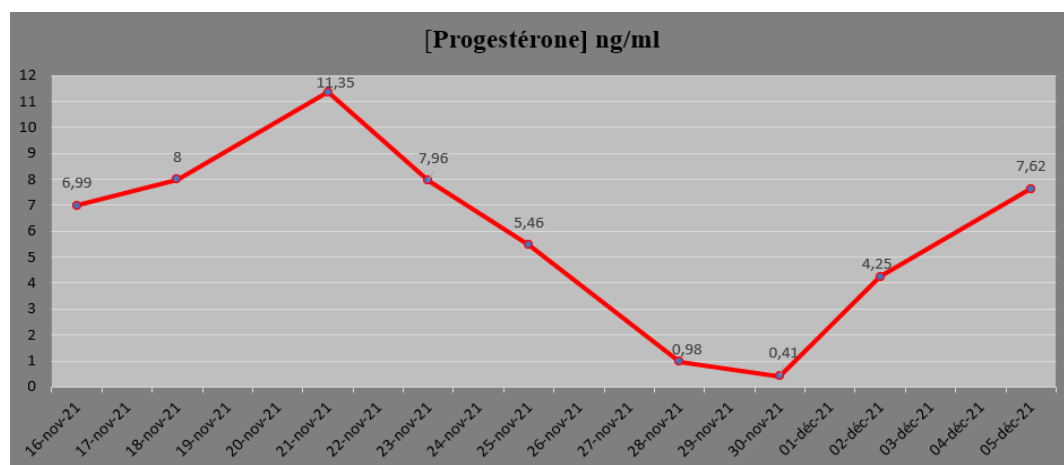


Figure 3.28 : Concentration de la progestérone sérique de la chèvre 03.

Interprétation :

L'histogramme représente la variation de chaque type cellulaire de la muqueuse vaginale (en pourcentage) en fonction du moment des prélèvements (du 16 novembre au 05 décembre).

Comme on peut le voir sur le tableau ci-dessus, on remarque une augmentation du nombre des cellules parabasales dans les deux premières semaines, tandis que le taux des cellules intermédiaires baisse durant la même période, alors que le nombre des cellules superficielles reste plus ou moins stable et pour le cas des cellules metœstrales, leur nombre est extrêmement faible.

Entre le 25 et le 30 novembre, on constate une augmentation brusque des populations cellulaires de type metœstral, pendant ce temps, le pourcentage des autres cellules reste stable.

Lors des derniers prélèvements, on distingue une légère diminution des populations cellulaires de type parabasal, contrairement aux cellules intermédiaires dont le nombre augmente progressivement. Pour les cellules superficielles, leur pourcentage reste à un niveau constant, cependant au même moment, les cellules metœstrales disparaissent complètement.

Quant à la concentration de la progestérone sérique, la courbe représente la variation de la P4 durant une période donnée (du 16 novembre au 05 décembre).

Lors de la première semaine, on remarque une augmentation de la P4 pour atteindre une valeur maximale de 11,35 ng/ml (le 21 novembre), ce qui veut dire que la chèvre était en diœstrus.

Ensuite, il y a eu une rechute progressive de la progestérone dans les jours suivants pour arriver à une valeur minimale de 0,41 ng/ml (le 30 novembre), ce qui signifie une éventuelle lutéolyse et reprise d'un nouveau cycle.

Dans les trois derniers prélèvements, on aperçoit une hausse de la concentration sérique de la progestérone (de 0,41 à 7,62 ng/ml) due à une ovulation et à la formation d'un nouveau corps jaune.

- **Chèvre 04 « N° d'identification : 6884 »** **Tableau 3.4** : Résultats de la cytologie vaginale et le profil hormonal de la progestérone pour la chèvre 04.

	Cytologie vaginale				Profil hormonal
	Cellules Parabasales	Cellules intermédiaires	Cellules Superficielles	Cellules Metoestrales	[Progestérone] ng/ml
16 novembre 2021	25,3 %	68,6 %	6,1 %	0 %	2,54
18 novembre 2021	50,4 %	42,6 %	7,0 %	0 %	4,46
21 novembre 2021	33,8 %	63,9 %	2,3 %	0 %	10,02
23 novembre 2021	29,1 %	61,0 %	9,9 %	0 %	10,90
25 novembre 2021	22,7 %	71,0 %	6,3 %	0 %	9,82
28 novembre 2021	30,6 %	64,3 %	5,1 %	0 %	14,10
30 novembre 2021	46,7 %	48,6 %	4,7 %	0 %	0,24
02 décembre 2021	30,1 %	39,5 %	3,4 %	27 %	0,11
05 décembre 2021	19,3 %	22,2 %	5,5 %	53 %	0,96

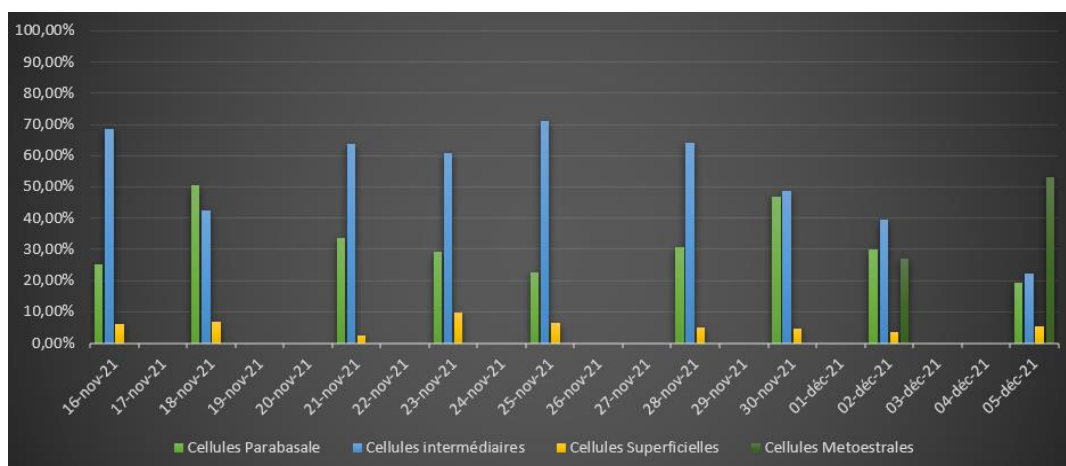


Figure 3.29 : Variation du taux des différentes populations cellulaires de la chèvre 04.

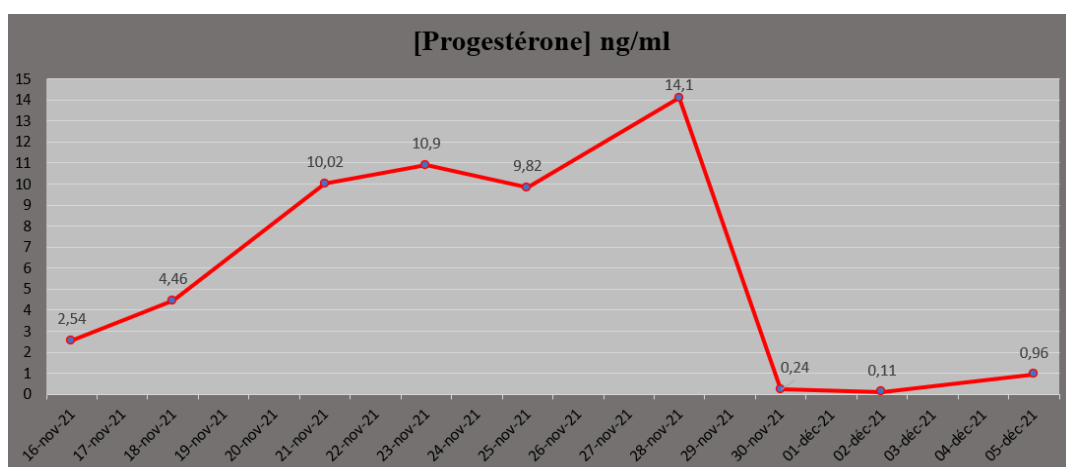


Figure 3.30 : Concentration de la progestérone sérique de la chèvre 04.

Interprétation :

En ce qui concerne le suivi de la cytologie vaginale, on observe la prédominance des cellules intermédiaires durant les trois semaines d'étude.

Quant aux cellules parabasales, on distingue une légère augmentation de leur nombre (du 16 au 30 novembre), ce qui nous indique que la chèvre était en période lutéale.

Cependant, la population des cellules superficielles reste plus ou moins constante tandis que les cellules metœstrales se font très rares (entre le 16 et le 30 novembre), mais la dernière semaine, on enregistre une hausse de ce type cellulaire, ce qui révèle que la femelle a repris un nouveau cycle quelques jours avant.

Pour cette chèvre, on constate des fluctuations progestéroniques allant de 2,54 ng/ml (16 novembre) à 14,10 ng/ml (28 novembre), cela signifie que la femelle était au stade diœstral, puis on enregistre une chute brusque du taux de progestérones sérique à des valeurs inférieurs à 1 ng/ml entre le 28 novembre et le 05 décembre, ce qui explique le passage de la phase lutéale à la phase folliculaire témoignant ainsi une cyclicité.

3.6. Quelques lames personnelles

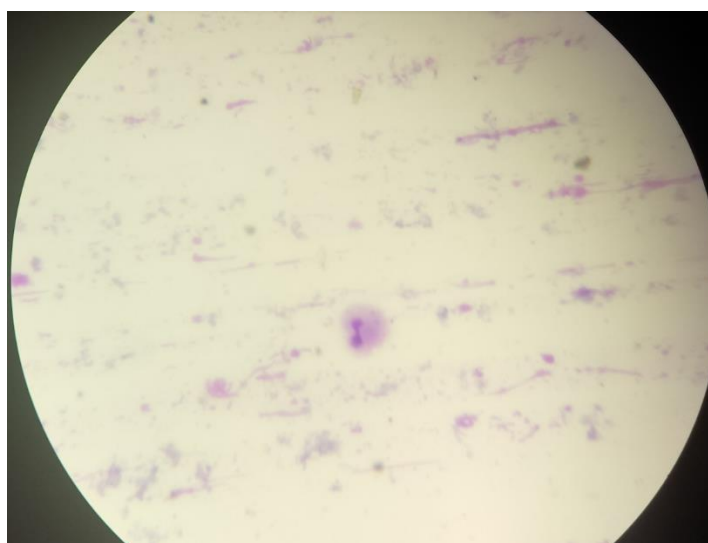


Figure 3.31 : Lame d'un frottis montrant une cellule metœstrale.

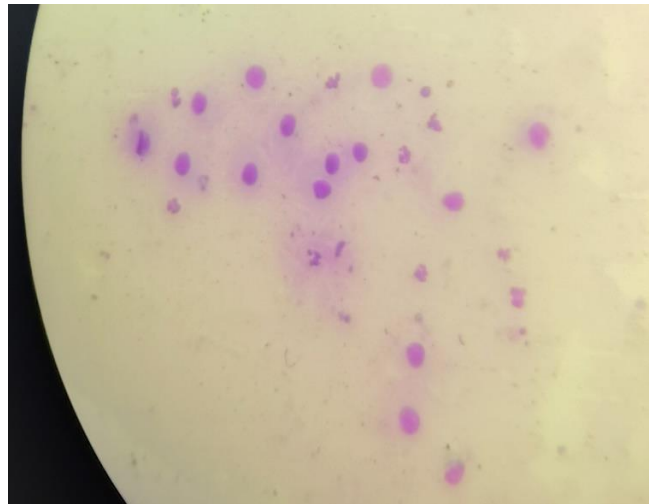
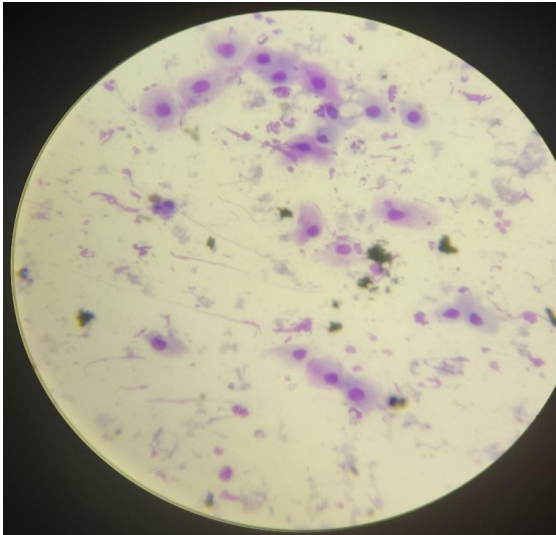


Figure 3.32 : Lamme d'un frottis montrant des populations cellulaires de type intermédiaire.

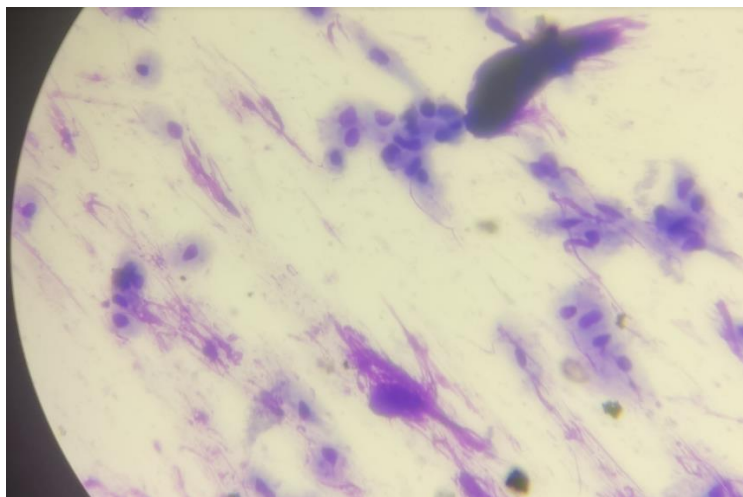


Figure 3.33 : Lamme d'un frottis montrant des cellules de type parabasale.

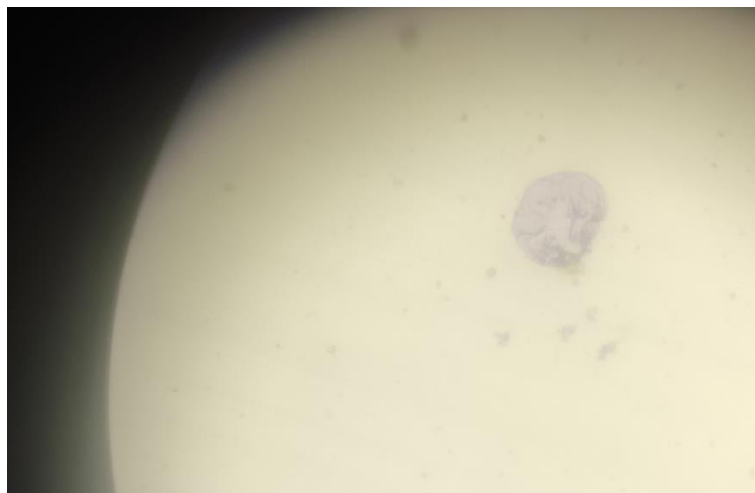


Figure 3.34 : Cellule superficielle anucléée.

3.7. Discussion

Les différents états hormonaux de la vie génitale se reflète dans l'aspect des frottis vaginaux (Marsan et Lecapon, 1972). A l'issue de nos résultats de la cytologie vaginale et du suivie hormonal durant la période d'étude, on s'est aperçu que toutes les chèvres ont présenté une cyclicité ovarienne en post-partum.

Une richesse en cellules (parabasales, intermédiaires, superficielles et metœstrales) a été enregistrée.

Plusieurs études ont rapporté que les frottis d'anoestrus sont généralement pauvre en cellules (Backer et Lumsden, 2001). Une étude récente a rapporté que la prédominance des cellules parabasales et intermédiaires caractérise fortement la phase lutéale (Aboulaiche et Serrar, 2020).

Lors de l'œstrus, le pourcentage des cellules superficielles isolées augmente et il n'est jamais inférieur à 60% (Feldman et Nelson, 1996). Pareillement, l'étude expérimentale de Achour en (2015) a confirmé que la prédominance des cellules superficielle est spécifique d'une période œstrale.

D'après les travaux de (Hoest et Phemister, 1974), les cellules parabasales et intermédiaires sont majoritaires dans un frottis du metœstrus avec une baisse significative du nombre des cellules superficielles. De même, les résultats obtenus par Achour en (2015) sur la reprise de l'activité sexuelle post-partum chez la race locale, ont montré que la concentration de la progestérone sérique en phase folliculaire varie en 0.26 et 0.53 ng/ml en moyenne et une progestéronémie supérieure ou égale à 1ng/ml est le signe de la présence d'un corps jaune fonctionnel. Ainsi, Akasu et al. (1992) ont conclu que les niveaux d'œstradiol et de progestérone suivent les phases lutéale et folliculaire, mais la progestérone est plus significative pour la détermination de la phase du cycle œstral.

Dans les régions tempérées, les caprins présentent des caractéristiques de reproduction potentiellement intéressantes avec une reproduction annuelle et une période d'anoestrus post partum limitée. Cependant, l'environnement défavorable, en particulier à travers les disponibilités alimentaires, peut altérer les performances de reproduction en diminuant la Fertilité et la prolificité (Mekki et Noui, 2022).

Par ailleurs, la prédominance des cellules parabasales et intermédiaires est associée le plus souvent à des valeurs élevées de la progestéronémie (> 1ng/ml). Même l'étude récente de (Aboulaiche et Serrar, 2020) a montré que, l'élévation de la progestérone plasmatique (> 1ng/ml) est associée à une augmentation des cellules parabasales et intermédiaires. A l'issu de nos résultats, on constate que nos femelles élevées dans les conditions locales présentent une cyclicité ovarienne et que le suivi hormonal confirme notre étude cytologique.

3.8. Conclusion

A la lumière de notre étude expérimentale concernant la cyclicité ovarienne post-partum chez la chèvre locale élevée dans nos conditions climatiques, en se basant sur la variation cytologique de la muqueuse vaginale ainsi que la cinétique de la progestérones sérique, nous avons constaté que les chèvres (de la ferme expérimentales de l'ENSV) présentent une cyclicité ovarienne post-partum, par la présence de différentes populations cellulaires (parabasales, intermédiaires, superficielles et metœstrales) ainsi que des fluctuations de la progestéronémie (supérieure et inférieure à 1 ng/ml).

3.9. Perspectives et recommandations

- Approfondir les recherches dans le domaine de la reproduction chez l'espèce caprine.
- Appliquer les différentes biotechnologies liées à la reproduction chez cette espèce (insémination artificielle, transfert embryonnaire).
- Optimiser la productivité et la prolificité par la mise en place de protocoles de synchronisation annuels.
- Une mise à la reproduction à un âge recommandé, permet d'optimiser les performances de reproduction aussi bien pour les mâles mais surtout pour les femelles.
- Un bon suivi sanitaire (vaccination, dépistage...etc.) ainsi que l'utilisation de moyens de diagnostics complémentaires, sont nécessaires pour une bonne conduite d'élevage.
- L'hygiène et l'alimentation sont deux facteurs primordiaux à l'optimisation de la production.

Références bibliographiques

[A]

- Aboulaiche. R. et Serrar. A, 2020.suivi chronologique de la fonction sexuelle chez la race Saanen dans la région de tizi ousou. Mémoire de fin d'étude : science vétérinaire. Ecole nationale supérieure vétérinaire
- Achour Yahia, 2015 contributions à l'étude des paramètres de la reproduction et saisonnalité de la chèvre autochtone
- Akusu. M.O, Nduka. E, Egbunike. G.N. « Peripheral plasma levels of progesterone and oestradiol-17 β during the reproductive cycle of West African Dwarf goats ». University of Ibadan. Ibadan Nigeria.(1992).

[B]

- Baker R and Lumsden JH. (2001) « Atlas de cytologie canine et féline » Masson, Paris (2001).
- Barone. R « Anatomie comparée des mammifères domestiques Tome III Splachnologie » Edition Vigot. 1978.
- Bessis M. Cellules du sang normal et pathologique. Paris : Masson et Cie ; 1972.
- Bowen, RA. « Techniques for preparing a canine vaginal smear. [en-ligne] ». Fort Collins (USA). Colorado State University (2000) [<http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/vc/prep.html>].
- Buff S. 2001 « Protocoles d'induction de l'oestrus chez la chienne » Le Point Vétérinaire N° 212 (Janvier-Février).

[C]

- Chevremont M., Cytologie et Histologie. Ed. Maloine Paris (1979).
- Concannon PW. Canine physiology of reproduction, in: Small animal reproduction and infertility, 1986, Burke.
- Concannon PW, Digreggio GB. (1987) Canine vaginal cytology. In Burke editor Small animal reproduction and infertility.
- Crémoux. R, X. Nouvel et X. Berthelot, « Réalisation d'un écouvillonnage vaginal », Institut de l'élevage idel, Toulouse, France, 2014

[D]

- Driancourt Ma, Levasseur Mc, (2001). Cycles oestriens et cycles menstruels. In : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris
- Dumon C. Cytologie de l'appareil reproducteur du chien et de la chienne, EMC Elsevier Masson SAS Paris Vét. Pathol. Reprod., 2009.

[E]

- England GCW, Concannon PW. 2002 « Determination of the optimal breeding time in the bitch: Basic considerations » (8 Jun 2002).
- Eilts BE. 2007“Induction of Estrous” In: Polycopié de Louisiana State University. Department of Veterinary Clinical.
- Emmeline, Marie-Alexandrine WURTH « ETUDE COMPARATIVE DE L’OVULATION CHEZ LES MAMMIFERES THESE Pour le DOCTORAT VETERINAIRE » .2010

[F]

- **Feldman et Nelson.** « Ovarian cycle and vaginal cytology. In: Canine and feline endocrinology and reproduction», 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, (1996).
- Fontbonne et Cadore vadeu mecum vétérinaire 1996.

[G]

- Gastonguab. F « la reproduction chez les ovins », CRAAQ (2000).
- 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.
- Gompel, « Atlas de la cytologie clinique » les éditions Maloine S.A, edition Paris, (1982)
- Guyant L. « Canine vaginal cytology. » Vet. Tech., 9, (1988), p 513-523.

[H]

- Heber K.R., « the effect of progesterone on vaginal cytology », Acta Cytol. Mar- Apr;19(2), (1975): p 103-109.
- Holst PA, Phemister RD. (1974) Onset of diestrus in the beagle bitch: definition and signifance.
- Hoffmann B, Riesenbeck R and Klein R. (1996), « Reproductive endocrinology of bitches » Animal Reproduction Science, n° 42, (1996).
- 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 (2011).
- Hulet. CV et Shelton. M. « reproductive cycles of sheep and goats» in Hafez and Hafez ESE. Ed, Reproduction in farm Animals, (1980), p346-347.

[J]

- Johnston. SD, Olson. PNS, Root kustritz. MV. « Vaginal cytology. In : Canine and feline» theriogenology. Philadelphia : WB Saunders, (2001), p32-41.

[K]

- Kohler.C, « Appareil génital féminin », Collège des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC), France, 2011.
- Koss LG. Diagnostic cytology and its histopathologic bases, II, 4th ed. Lippincott Raven; 1992.

[M]

- Malandain E and Fontbonne A, (2006) “Vaginal smears in the bitch – The Royal Canin Cut-out and Keep guide”
- Marsan C., Et Lecapon J. Atlas de Cytologie TOME I. 2ème édition gynécologie. Première partie : Cythologie hormonale et fonctionnelle. Varia Edition, Paris. (1972).
- Mialot. JP, « Examen de l’appareil génital femelle. In : Pathologie de la reproduction chez les carnivores domestiques ». Maisons-Alfort : éditions du point vétérinaire, (1984), p29-44.
- Microbiologie clinique, « Frottis bactériens et introduction à la coloration », Collège d'agriculture et des sciences de la vie, Université d'État de l'Iowa, Etats-Unis, 2012 : https://microbiologie-clinique.com/Realiser-Frottis-bacteriens.html?fbclid=IwAR1X71HTUOHuSH4ndMaR8ILHazpFFz9QX90c_k1wI4t8kV7-x9NTKnw5gA

[N]

- Neuveux M. « Les frottis vaginaux chez la chienne » Point Vet, vol 30, (1999), p557-564.
- Nicol Jean-Marie, publié le 09 février 2019. <https://www.reussir.fr/lait/video-comment-sassurer-quun-veau-est-sterile?fbclid=IwAR37gnCEuYO-iRwBwoqshmmaWdpuw7IeaXn6lLohzjNsY5HWeXm3DTDnVDE>
- 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.
- Noakes D. 2001. Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In: NOAKES DE, PARKINSON TJ, ENGLAND CWE. Arthur’s Veterinary reproduction and obstetrics.

[O]

- Oettle EE and Weldhagen AA. 1982. “A modified Shorr's stain: a practical rapid stain for canine vaginal cytology”

[P]

- Papanicolaou GN. "A new procedure for staining vaginal smears" Science; n°95 (1942).
- Prelaud P, Rosenberg D and Fornel P, (2002) De « Tests hormonaux : Explorations fonctionnelles en endocrinologie des carnivores domestiques » Masson - AFVAC, Paris, p 276.
- Pundel J.P, Les frottis vaginaux endocriniens. Desser-Masson - 2eme édition. (1952).

[R]

- 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.
- Rick L. Cowell, Roland. D, Tayler A, James. H et Meinkoth, « guide pratique de cytologie et d'hématologie du chien et du chat ». traduction Edition Med'com, 2 nd édition (2006), New York, USA.

[S]

- Semantic Scholar, « Intéret de l'interprétation des frottis vaginaux en début de proestrus lors du suivi de chaleurs, étude expérimentale », 2005 : <https://www.semanticscholar.org/paper/Int%C3%A9ret-de-l%27interpr%C3%A9tation-des-frottis-vaginaux-la-Luc/902554c8894beb33e8d347933b28ecc98528df70/figure/18?fbclid=IwAR2A8-AjDhTB5LDshJq5rwzIy7N-VxOyK0aGGPneKhkInMz8OgI53x2V9sQ>

[T]

- TAMBOURA. Laya SAWADOGO Caractéristiques temporelles et endocriniennes de la puberté et du cycle œstral chez la chèvre locale « Mossi » du Burkina Faso 1998.
- Thimonier J. ENSA.M-INRA, UMR Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone 2000.

[V]

- 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 (1996).
- Vaughan L. «Reproduction in the bitch» Irish Vet. J., vol 49, (1996), p626-628.
- 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]

- Wolfgang. K. « Atlas de poche cytologie, histologie et anatomie microscopique à l’usage des étudiants » 2nd edition, (Juin 1995).
- Wright JH. A rapid method for the differential staining of blood films and malarial Parasites (1902).