

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Intérêt du frottis vaginal chez la chienne dans la détection des chaleurs

Présenté par : BOUGHANEM Neila et CHELGHAM Ferial Zohra

Soutenu le : 25 / 09 / 2019

Devant le jury composé de :

- | | | | |
|-----------------|---------------------|--------------|------|
| - Président : | Zaouani Mohamed | (MCB) | ENSV |
| - Promoteur : | Lamara Ali | (Professeur) | ENSV |
| - Examineur 1: | Idres Takfarinas | (MCB) | ENSV |
| - Examineur 2 : | Boudjellaba Sofiane | (MAA) | ENSV |

Année universitaire : 2018-2019

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier notre promoteur Pr. LAMARA Ali qui a accepté de nous encadrer, et fait preuve de patience, compréhension et gentillesse en étant présent durant toutes les étapes de la réalisation de ce travail.

Notre gratitude va aussi envers nos professeurs et membres du jury qui ont accepté de juger notre travail, Dr. ZAOUANI mohamed, pour sa présence et son aide, Dr. IDRES Takfarinas, qui a contribué à la réalisation de notre projet, nous lui serons à jamais reconnaissantes, pour ses précieux conseils, sa disponibilité et ses encouragements continuels, Dr. BOUDJELLABA Sofiane , pour ses encouragements et ses remarques constructives.

Nous n'oublions pas de remercier Dr. Bellala de l'université de Saad Dahleb qui nous a chaleureusement accueillie dans son laboratoire pour une partie de notre expérimentation.

Nous tenons aussi à remercier Dr. ZEBoudji Mouloud qui nous a permis de faire des prélèvements dans son cabinet, ainsi que tout les propriétaires et éleveurs de chiennes pour leur confiance et contribution.

Pour finir un grand merci aux techniciens du laboratoire de physiologie de la reproduction et à tous les enseignants de l'ENSV, pour tout ce qu'ils nous ont apporté durant ces cinq années d'études, nous espérons que ce travail sera à la hauteur .

Puisse cette étude apporter la pleine satisfaction à ceux qui la lisent.

Merci à vous tous.

Dédicaces

A nos chers parents, aucune dédicace ne saurait exprimer notre respect , notre amour éternel et notre considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour notre bien être à toutes les deux, merci de nous avoir supporté durant les moments les plus stressants de notre vie.

A nos adorables frères et sœurs Amine et Manelle, merci pour vos encouragements, conseils et votre attention, grace à vous l'expression « loin des yeux, près du cœur » prend vie.

A nos chers amis(e), plus particulièrement Mehdi qui nous a soutenu tout le long de notre projet, Bahdja et Dihya.

Aux hyoguis.

A tous ceux qu'on aime.

Feriel et Neila.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre 1 : données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne	2
1.1 Rappels anatomiques et physiologiques	2
1.1.1 Anatomie de l'appareil reproducteur femelle.....	2
1.1.2 Apparition de la puberté	4
1.1.3 Rythme des chaleurs.....	5
1.1.4 Les facteurs influençant la fréquence des chaleurs	5
1.1.5 Les chaleurs atypiques de la chienne :	6
1.1.6 Le cycle oestral.....	7
1.1.7 Le cycle ovarien	12
1.2 Cytologie vaginale	13
1.2.1 Classification des cellules de l'épithélium vaginal	16
1.2.2 Variation de la cytologie vaginale au cours du cycle.....	22
1.3 Détection des chaleurs chez la chienne	26
1.3.1 Critères subjectifs	26
1.3.2 Les critères objectifs.....	27
1.4 Les affections de l'appareil génital de la femelle	37
Chapitre 2: Méthodologie	40
2.1 Enquêtes.....	40
2.1.1 Enquête au niveau des cabinets vétérinaires algériens canins.....	40
2.1.2 Expertise de la gestion de la reproduction de la chienne par les propriétaires et/ou éleveurs	40
2.2 Présentation des zones d'études	41
2.3 Choix de l'échantillon	41
2.4 Méthode et matériel	42
2.4.1 Contention	42
2.4.2 Prélèvement.....	42
2.4.3 Etalement.....	43
2.4.4 Fixation.....	43
2.4.5 Conservation des lames	44
2.4.6 Coloration des lames	44
2.4.7 Lecture au microscope	46
Chapitre 3 : Résultats et discussion	48

Sommaire

3.1	Résultats.....	48
3.2	Discussion.....	60
	Conclusion.....	62

Liste des figures

Figure 1 : Ovaire de chienne dans la bourse ovarique ouverte	2
Figure 2 : Vulve et région périnéale de la chienne.....	4
Figure 3 : Diagramme illustrant les fluctuations hormonales et comportementales de la chienne en phase de proestrus, œstrus et dioestrus.	10
Figure 4 : Epithélium pavimenteux non kératinisé pluristratifié.....	14
Figure 5 : Les cellules du frottis vaginal et leur processus de maturation	14
Figure 6 : Aspect des cellules vaginales en fonction du cycle sexuel.....	16
Figure 7 : Cellules parabasales.....	17
Figure 8 : Cellules parabasales en colonne	17
Figure 9 : Cellules petites intermédiaires	18
Figure 10 : Cellule grande intermédiaire.....	18
Figure 11 : Cellule superficielle	19
Figure 12 : Cellule métoestrals	20
Figure 13 : Cellule spumeuse	20
Figure 14 : Cellule de la fosse clitoridienne.....	21
Figure 15 : Spermatozoides.....	22
Figure 16 : variations de la concentration en leucocytes et en érythrocytes (le jour1 correspond ici au 1erjour du pro-œstrus)	24
Figure 17 : Schéma typique de la modification des cellules épithéliales vaginales à la survenue du metoestrus.	25
Figure 18 : illustration des modifications de l'épaisseur de la paroi vaginale, de la cytologie vaginale et de la concentration plasmatique relative en œstrogènes chez une chienne moyenne présentant un cycle œstral.	26
Figure 19 : Changements dans les types de cellules et leur nombre relatif dans les frottis vaginaux de la chienne au cours des différentes étapes du cycle oestral	26
Figure 20 : Courbe typique des variations de la résistance du mucus vaginal chez la chienn.	28
Figure 21 : Aspect de la muqueuse vaginale au moment de l'œstrus: Plis vaginaux anguleu.	29
Figure 22 : Technique d'écouvillonnage vaginal chez la chienne.....	31
Figure 23 : Les solutions Diff-Quick®	32
Figure 24 : frottis vaginal coloré avec la méthode Diff-Quick® au grossissement x100.....	33
Figure 25 : Frottis des différentes phases coloré par le trichrome d'Harris Shorr	34
Figure 26 : positionnement de la chienne et de la sonde lors de l'échographie ovarienne	36
Figure 27 : Aspect des ovaires en période pré-ovulatoire par l'échographie ovariennes	37
Figure 28 : Les différentes étapes du prélèvement vaginal.....	43

Liste des figures

Figure 29 : L'étalement du prélèvement vaginal	43
Figure 30 : Fixation du frottis vaginal.....	44
Figure 31 : Conservation des lames	44
Figure 32 : KIT DIAG-OESTRO ®.....	45
Figure 33 : Etapes de coloration de Harris-Shorr raccourcie	45
Figure 34 : Les différentes étapes de la coloration au Diff-quick ®.....	46
Figure 35 : Microscope binoculaire Optika B-350	47
Figure 36 : Femelle Husky sibérien	48
Figure 37 : Frottis vaginal d'un début de proestrus coloré par le Kit Diag-Oestro ®	49
Figure 38 : Frottis vaginal de proestrus moyen coloré par le Diag-oestro ®.....	49
Figure 39 : Ecouvillon d'une fin de proestrus.....	50
Figure 40 : Frottis vaginal de fin de proestrus (1) coloré par le Diag-Oestro ®.....	50
Figure 41 : Frottis vaginal de fin de proestrus (2) coloré par le Diag-Oestro ®.....	51
Figure 42 : Frottis vaginal de fin extrême de proestrus coloré par le Diag-Oestro ®.....	51
Figure 43 : Frottis vaginal d'un oestrus (1) coloré par le Diag-Oestro ®.....	52
Figure 44 : Frottis vaginal d'un oestrus (2) coloré par le Diag-oestro ®.....	52
Figure 45 : Ecouvillon d'un oestrus	53
Figure 46 : Frottis vaginal d'un oestrus coloré par le Diff-Quick ®.....	53
Figure 47 : Ecouvillon d'un dioestrus	53
Figure 48 : Frottis vaginal d'un dioestrus (1) coloré au Diag-Oestro ®.....	54
Figure 49 : Représentation du pic de l'index eosinophile de la chienne 01	54
Figure 50 : Frottis vaginal d'un oestrus (3) coloré au Diag-Oestro ®	55
Figure 51 : Frottis vaginal d'un anoestrus de stérilisation coloré au Diag-Oestro ®.....	55
Figure 52 : Frottis vaginal d'un anoestrus coloré par le Diff-Quick ®.....	56
Figure 53 : Frottis vaginal d'un dioestrus(2) coloré par le Diag-Oestro ®.....	57
Figure 54 : Frottis vaginal d'une chienne atteinte d'un sarcome de Sticker coloré par le Diag-Oestro ®	58
Figure 55 : Frottis vaginal d'un dioestrus coloré par le Diff-Quick ®.....	58
Figure 56 : Frottis vaginal d'une chienne atteinte d'une métrite coloré par le Diag-Oestro ®	59
Figure 57 : Frottis vaginal d'un dioestrus (3) coloré par le Diag-Oestro ®	59

Liste des tableaux

Tableau 1: Protocole de coloration Diff-Quick®	32
Tableau 2: Protocole de coloration de Harris Shorr	34
Tableau 3: Protocole de coloration Harris-Shorr raccourci	45
Tableau 4: Protocole de coloration Diff-Quick	46

Introduction

En Algérie, les chiens font sans aucuns doutes parti des animaux domestiques des plus appréciés de par leurs diverses qualités, de plus le marché des chiens est en effervescence, et constitue un enjeu économique considérable, du fait que la femelle n'a généralement que eux portées par an (EDWARD *et al.*, 1996). Actuellement, le prix du chiot avoisinerait les 50 000 à 100 000 DA contre 19 000 DA il y'a quelques années. Le contrôle de la reproduction des canidés devrait alors représenter une part importante de l'activité du vétérinaire praticien.

Les propriétaires de chiennes reproductrices, qu'ils soient professionnels ou amateurs, ont des attentes précises concernant la reproduction de ces dernières. Ces attentes tendent à se rapprocher de celles rencontrées en élevage d'animaux de rente à savoir, la détection optimale des chaleurs, l'optimisation du moment opportun, l'augmentation de la prolificité et la sélection génétique

Pour cela, le principe de notre travail est de réaliser et d'analyser les frottis vaginaux de chiennes en vue de préciser la phase du cycle œstral à laquelle elle est au moyen de deux techniques de colorations, la première est le trichrome d'Harris Shorr par le Kit Diag-Oestro® qui permet de distinguer les cellules de la muqueuse vaginale selon leur affinité tinctoriale et non seulement sur des critères morphologiques (OLSON *et al.*, 1984), et dont le protocole permet d'évaluer l'index éosinophile qui reflète l'imprégnation oestrogénique de la muqueuse vaginale (DUTEY, 2015).

La seconde technique est le monochrome de May Grunwald Giemsa grâce au Diff-quick, et ce dans un but pratique auprès des vétérinaires canins comme examen complémentaire fiable, rapide et peu coûteux et ce afin d'optimiser les résultats de gestations avant l'accouplement.

Nous aborderons, dans le premier chapitre les données bibliographiques concernant la physiologie de la reproduction de la chienne et ses spécificités anatomiques, endocriniennes et cytologiques notamment lors de la réalisation du frottis vaginal, ainsi que les principaux protocoles de coloration utilisés lors de la réalisation de cet examen. Un second chapitre sera consacré aux méthodes utilisées durant notre expérimentation. Enfin un troisième et dernier chapitre comportera les résultats de nos analyses ainsi qu'une discussion.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

1.1 Rappels anatomiques et physiologiques

Dans le but de bien préparer la mise à la reproduction des chiennes, il est important de connaître et de comprendre les bases anatomiques et physiologiques de la fonction de reproduction.

1.1.1 Anatomie de l'appareil reproducteur femelle

- **Les ovaires :**

Ce sont les gonades femelles, il s'agit d'organes pairs, ovales situés dans la cavité abdominale, caudalement aux reins. Chez un animal ayant atteint la maturité sexuelle, qui pèse 11.4kg, l'ovaire gauche se situe approximativement 12cm caudalement à la moitié de la 13^{ème} cote et 1 à 3 cm caudalement au rein correspondant. L'ovaire droit quant à lui se situe approximativement 10 cm caudalement à la dernière cote du côté droit, leur taille moyenne est d'environ 1,5 cm de long, 0,7 cm de large pour 0,5 cm d'épaisseur, les ovaires sont enveloppés dans la bourse ovarique qui est une évagination de la cavité péritonéale constituée de deux mesos: mésovarium et mésosalpinx (Fig.1). Elle est abondamment graisseuse chez la chienne rendant la visualisation des ovaires impossible lors d'inspection par laparotomie. (JOHNSTON *et al.*, 2001)

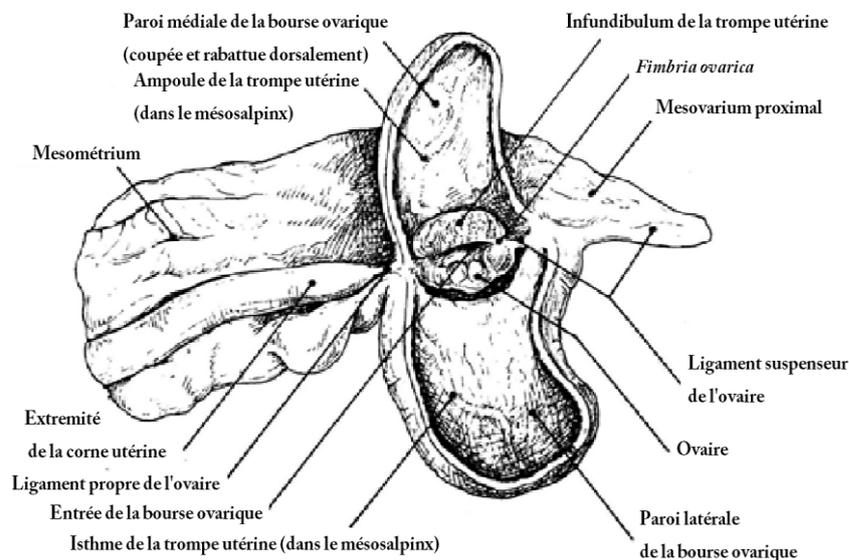


Figure 1 : Ovaire de chienne dans la bourse ovarique ouverte (BARONE, 1990)

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

- **Les oviductes :**

Ou encore appelés trompes utérines, ils permettent le transport des ovocytes vers l'utérus grâce à un mouvement péristaltique. Leur taille varie de 4 à 7 cm en moyenne, pour un diamètre de 1 à 3mm. (EVANS et DE LAHUNTA, 2013)

JOHNSTON et *al.* (2001) rapportent que l'extrémité ovarienne de la trompe est appelée infundibulum tubaire (ou pavillon) elle s'ouvre sur l'ovaire dans la bourse ovarique, l'infundibulum a la forme d'un entonnoir qui permet de recevoir l'ovocyte après l'ovulation par cette ouverture et son pithélium est couvert de fimbriae qui captent l'ovocyte, pendant l'œstrus une petite masse rougeâtre dépasse de la face dorsale de la bourse dans la cavité péritonéale. Tandis que l'extrémité utérine qui s'ouvre sur les cornes utérines est appelée ostium utérin, elle est constituée d'une fermeture fonctionnelle au niveau de la jonction utero-tubulaire qui empêche le reflux des liquides vers les oviductes.

- **L'utérus :**

Selon JOHNSTON et *al.* (2001), l'utérus est constitué du corps mesurant 1,4 à 3 cm de long et du col d'environ 1,5 à 2cm de long pour une chienne de 10kg nullipare et est caractérisé par deux cornes utérines . Sa taille varie en fonction de l'individu et du statut physiologique, il est le siège de l'implantation du fœtus et assure sa nutrition au cours de son développement.

- **Le vagin :**

C'est un canal musculo-membraneux qui s'étend de l'utérus au vestibule, sa partie crâniale est limitée par le *fornix*, qui est un cul-de-sac correspondant à la partie la plus profonde du vagin, l'hymen est retrouvé chez les nullipares à la jonction vagino-vestibulaire, il est cependant absent chez la femelle adulte. Le vagin est formé de plis transversaux incomplets. Sa partie caudale est appelé *ostium vaginale*.

Chez une chienne la longueur du vagin varie en moyenne entre 10cm et 14cm, qui est la même pour les cornes utérines. La longueur et le diamètre du vagin augmentent durant la gestation et parturition. (JOHNSTON et *al.*, 2001)

- **Le sinus uro-génital**

Correspond à l'ensemble de l'appareil génital et urinaire. Il est constitué de deux portions de par la topographie et la structure : Le vestibule du vagin qui est la partie profonde qui conduit

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

au vagin et la vulve avec le clitoris qui est la partie qui s'ouvre sur l'extérieur. (CHRISTENSEN et EVANS, 1993)

- **La vulve :**

D'après JOHNSTON et *al.* (2001), la vulve comprend deux lèvres de part et d'autre de la fente de la vulve, elles se rejoignent au niveau d'une commissure dorsale un peu arrondie, souvent surmontée d'un pli cutané transversal. La commissure ventrale est aiguë et portée par un appendice conique dirigé ventro-caudalement. La limite crânienne de la vulve est également la partie crânienne de la fosse clitoridienne qui est très développée chez la chienne (Fig.2). (BARONE, 1990)

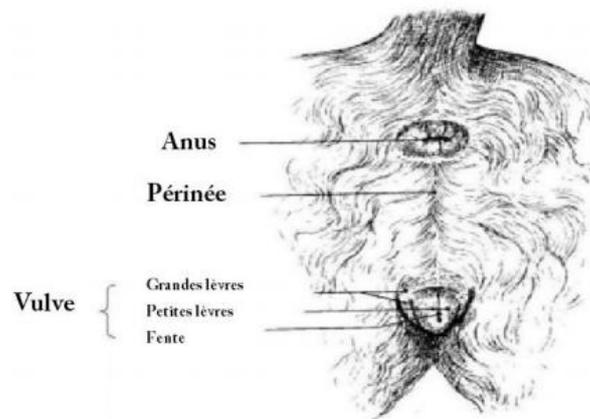


Figure 2 : Vulve et région périnéale de la chienne (BARONE, 1990)

1.1.2 Apparition de la puberté

SOKOLOWSKI (1977) décrit la puberté comme un ensemble d'événements biologiques qui engendrent des modifications anatomiques et comportementales importantes aboutissant à l'acquisition de la fonction de reproduction. Elle est atteinte lorsque l'activité reproductive débute chez la chienne, caractérisée par l'apparition des premières chaleurs.

D'après ARTHUR et *al.* (1996), elle varie d'une chienne à une autre entre 6 et 15 mois lorsque la chienne atteint les deux tiers de son poids adulte. La race a un effet significatif sur la survenue des premières chaleurs. Selon BALZER et LOTH (2012), elle est plus précoce pour les chiennes de petite race ou race naine et plus tardive pour les races géantes et les molossoïdes. Cependant il existe des variations au sein de la même race.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

1.1.3 Rythme des chaleurs

La chienne possède un cycle mono-œstral, soit la manifestation d'un seul œstrus par cycle durant lequel l'ovulation se produit, la femelle présente des chaleurs en moyenne tout les 7 mois. l'intervalle qui sépare deux périodes de chaleurs est appelé interœstrus il regroupe le metoœstrus et l'anoœstrus. (EDWARD et *al.*, 1996)

Une étude effectuée par GUERIN et FONTBONNE (1997) sur des animaux de même race (des chiennes beagles) indique que l'interœstrus peut varier entre 3.5 et 13 mois.

1.1.4 Les facteurs influençant la fréquence des chaleurs

- **La race:**

Selon FELDMAN et NELSON (2004), les chiennes de petit format ont souvent un interœstrus plus court que celles de plus grand format.

En effet, BLAZER et LOTH (2012), soulignent que l'interœstrus est d'environ 4 à 5 mois chez les chiennes Berger Allemand ou Rottweiler, contrairement aux races comme Colley, Labrador ou Léon berg dont l'interœstrus est régulièrement plus long 8-9 mois voire 12 mois.

- **L'individu :**

En effet, l'interœstrus peut aussi être variable au sein de la même race (Tous les Bergers allemands ne viennent pas en chaleur forcément tous les 4 mois). Pour le même individu d'un cycle à l'autre (ex : Une chienne peut revenir en chaleur après 6 mois et la fois d'après, après 8 mois). (BLAZER et LOTH, 2012)

- **La saison :**

D'après FELDMAN et NELSON (2004), Les chiennes ont des cycles ovariens tout au long de l'année mais ce processus a tendance à avoir des pics subtils à la fin de l'hiver, au début du printemps ainsi qu'en automne, donc Les saisons de reproduction dépendent à la fois du facteur génétique et du facteur de gestion.

Seules les chiennes de race Basenji (terrier du Congo) sont saisonnières, avec un œstrus apparaissant en période de photopériode croissante. (SAINT-DIZIER et CHASTANT-MAILLARD, 2014)

- **L'âge de la chienne :**

Selon SAINT-DIZIER et CHASTANT- MAILLARD (2014), les chaleurs deviennent moins fréquentes et/ou moins visibles chez les chiennes âgées, cependant, il n'y a aucune

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

ménopause, seulement un ralentissement de la fonction de reproduction. L'étude menée par ANDERSON et SIMPSON (1973), a démontré que l'interœstrus chez les chiennes Beagle après l'âge de 8 ans est passé d'environ 240 jours à plus de 330 jours.

- **Chienne vivant en collectivité :**

LEVY et MIMOUNI (2018) rapportent que l'apparition des chaleurs sur chienne vivant en collectivité peut déclencher les chaleurs sur les chiennes vivant avec elle.

- **Autres :**

D'après FELDMAN et NELSON (2004), le stress, un exercice physique intensif et une mauvaise nutrition peuvent potentiellement influencer le cycle de la chienne. De plus la densité, Les températures extrêmes, des voyages excessifs ainsi que l'hypothyroïdie et l'excès en glucocorticoïdes, pourraient également avoir des effets négatifs sur certaines chiennes.

1.1.5 Les chaleurs atypiques de la chienne :

Un certain nombre de chiennes ne suivent pas le schéma typique des chaleurs, on peut notamment observer :

- **Des chaleurs dites « silencieuses » :**

BLAZER et LOTH (2012), affirment que dans ce cas-là les signes des chaleurs sont frustrés : œdème et pertes vulvaires discrets et absence d'attraction du mâle, elles concernent les premières chaleurs des jeunes chiennes, les chaleurs des chiennes très soumises dans un élevage, et celle des femelles de plus de 10 ans.

En effet, certaines chiennes de petites races donnent l'impression de ne jamais être en chaleur, et l'isolement des congénères favoriserait l'expression de chaleurs silencieuses. (LEVY et MIMOUNI, 2018)

- **Des chaleurs disjointes, appelées encore fractionnées ou fausses chaleurs ou « split-heat » :**

Selon BLAZER et LOTH (2012), la chienne montre quelques-uns des signes d'une véritable chaleur pendant une chaleur disjointe, tel qu'un écoulement vaginal séro-sanguineux, un gonflement vulvaire et l'attraction du mâle, et ce pendant une dizaine de jours, puis elles s'interrompent brutalement, en général sans ovulation. Dans certains cas les chiennes ne présentant ce type de chaleurs seront même réceptives à l'accouplement.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Cependant, des chaleurs normales peuvent de nouveau débiter après quelques jours à quelques semaines et sont le plus souvent accompagnées d'une ovulation. En effet, LEVY et MIMOUNI (2018) précisent que les fausses chaleurs sont très fréquentes chez une jeune chienne au cours des premiers.

Selon BLENDINGER (2007), la cause exacte de ces dernières est inconnue mais l'augmentation des niveaux d'estradiol-17 β du développement folliculaire au cours de l'anœstrus et avant l'apparition d'un «vrai» proœstrus, peut expliquer la survenue de ces signes cliniques.

- **Des Chaleurs persistantes :**

D'après BLAZER et LOTH (2012), elles sont le plus souvent la conséquence d'une anomalie folliculaires comme des kystes folliculaires non luthéinisés, chez les chiennes âgées, et se traduisent par des chaleurs très longues voire continues.

- **Des chaleurs inhibées :**

Selon SAINT-DIZIER et CHASTANT- MAILLARD (2014), les chiennes vivant en meute, les plus soumises restent en anœstrus, il convient alors de sortir la chienne du groupe pour lui permettre de déclencher des chaleurs et mener une gestation à l'écart de la meute.

- **Syndrome d'anœstrus court :**

D'après BLENDINGER (2007), certaines races comme le berger allemand et certains individus ont tendance à avoir un interœstrus réduit de moins de 4mois. Cette condition est corrélée à une mauvaise performance de reproduction.

1.1.6 Le cycle œstral

1.1.6.1 Définition

Le cycle sexuel ou cycle œstral de la chienne est constitué de quatre phases successives. (HEAPE, 1900)

Le proœstrus et l'œstrus qui représentent la période des chaleurs. Le dioœstrus ou période de gestation et l'anœstrus, phase du repos sexuel séparant deux périodes de reproduction.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Selon FELDAMAN et NELSON (2004), le diœstrus, est la période qui suit l'accouplement, elle est associée à une activité du corps jaune, alors que le metoestrus fait référence à la période d'activité du corps en tant qu'entité distincte. Néanmoins, chez la chienne, l'activité de reproduction se poursuit malgré l'augmentation des concentrations plasmatiques de progestérone, cette progestérone a pour origine les follicules lutéinisés en première position, puis le corps jaune.

Ainsi, le terme utilisé pour décrire le cycle sexuel unique de la chienne est diœstrus plutôt que meteostrus.

Voici la durée de chaque phase ;

Le proestrus : il a une durée allant de **3** à **21** jours. (CONCANNON et *al.*, 1989)

L'oestrus : il dure en moyenne **3** à **2** jours jusqu'à **9** jours. (CONCANNON et *al.*, 1989)

Le diœstrus : il dure généralement **70** jours avec un intervalle de **55** à **90** jours. (SCHAEFERS-OKKENS,2010)

L'anœstrus: Il peut durer entre **4** à **12** mois avec une moyenne de **7** mois. (SCHAEFERS-OKKENS , 2010)

C'est cette phase qui est responsable de la grande variabilité de la durée du cycle sexuel chez la chienne. (DUTEY,2015)

FONTBONNE (1996) affirme que l'aspect le plus important de l'anœstrus est la régularité et non la durée.

1.1.6.2 Hormones impliquées dans la régulation du cycle sexuel

Selon EVANS et WHITE (2002), les fonctions des gonades sont contrôlées par l'hypothalamus, une glande située sur le plancher du cerveau et l'antéhypophyse (lobe antérieur de l'hypophyse, adénohypophyse). L'hormone de contrôle en amont est la gonadolibérine (gonadotropin-releasing hormone, GnRH), qui libère les gonadotrophines (hormone folliculostimulante [follicle stimulating hormone, FSH] et hormone lutéinisante [luteinizing hormone, LH]) par l'intermédiaire de récepteurs situés sur l'antéhypophyse. Dans les gonades se déroulent alors la synthèse et la libération des stéroïdes sexuels (œstradiol, progestérone). Le contrôle de la libération des hormones est alors assuré par des mécanismes de rétrocontrôle. [1]

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

L'axe hypothalamo-hypophysaire est régulé par l'intermédiaire de neurotransmetteurs comme la sérotonine, la mélatonine et la dopamine, dont la sécrétion dépend de stimuli endogènes, tel que l'état nutritionnel de la chienne, et de stimuli exogènes comme la présence de mâles ou d'autres femelles en chaleurs. (CORNELOUN, 2011)

1.1.6.3 Modifications durant les différentes phases

- **Proestus**

-Sur le plan morphologique :

FONTBONNE (1996) affirme que cette période est annoncée par une augmentation du volume de la vulve, ainsi qu'une forte congestion du vagin, en plus d'un écoulement vulvaire sanguinolent d'origine utérine.

Ceci dit, ces signes n'apparaissent pas chez toutes les chiennes, certaines femelles ne présentent pas du tout d'écoulements de sang tandis que d'autres ne présente pas de perte sanguines dès le début des chaleurs.

-Sur le plan interne :

Selon FELDMAN et NELSON (2004), le proestrus est une phase à dominance œstrogénique, ces œstrogènes sont libérées par les follicules ovariens en croissance.

FELDMAN et NELSON (2004), rapportent que la concentration des œstrogènes circulant augmente considérablement, atteignant 25pg/ml en début de proestrus et jusqu'à 60 à 70 pg/ml en fin de proestrus.

FONTBONNE (1996), affirme que ces œstrogènes activent l'hypothalamus, qui lui-même agit sur l'ante-hypophyse, ce dernier sécrète des gonadotrophines: La FSH : (Follicle-stimulating Hormone) qui est à l'origine de la croissance folliculaire et la LH (Lutenizing Hormone) relarguée en fin extrême de proestrus, de façon brutale a des taux très élevée , ce « pic » de LH est responsable du déclenchement de l'ovulation.

Quant à la concentration de progestérone, elle est faible pendant le proestrus <0.5ng/ml jusqu'aux dernières 24 à 72 heures qui sont associées à une concentration plasmatique de progestérone qui dépasse un plateau critique (1,0 ng / ml). (FELDMAN et NELSON, 2004)

-Sur le plan comportemental :

Selon FONTOBONE (1996), au cours du proestrus les chiennes attirent le mâle par des phéromones émises dans les urines et les sécrétions vaginales, mais refusent l'accouplement.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

En général, le début de l'acceptation du mâle survient au moment du pic de LH décrit plus haut. Ce qui veut dire que l'acceptation de la réalisation de la saillie commence bien avant que l'ovulation ne se produise.

- **Œstrus**

- Sur le plan morphologique :**

C'est la deuxième phase de la période des chaleurs, se caractérisant chez la chienne sur le plan externe par une vulve gonflée, des écoulements vulvaires moins abondants et plus clairs, aussi ces pertes deviennent muqueuses. (BLAZER et LOTH,2012) Cependant FONTBONNE (1996), précise que ce phénomène ne s'observe pas chez toutes les femelles.

- Sur le plan interne :**

FONTBONNE (1996), affirme que l'ovulation se produit deux à trois jours en général après le début de l'acceptation du mâle. Sur le plan hormonal, FELDMAN et NELSON (2004) rapportent que le pic de LH se produit le premier jour de l'œstrus (Fig. 3), c'est aussi la phase décroissante de la concentration sérique oestrogénique. De plus l'ovulation est accompagnée de la libération dans le sang d'une hormone indispensable au maintien de la gestation, la progestérone, cette dernière est sécrétée par les follicules progressivement lutéinisés avant l'ovulation et le développement du corps jaune. Ainsi, plus de progestérone et moins d'oestrogènes sont synthétisées progressivement au fur à mesure que la chienne progresse dans l'œstrus.

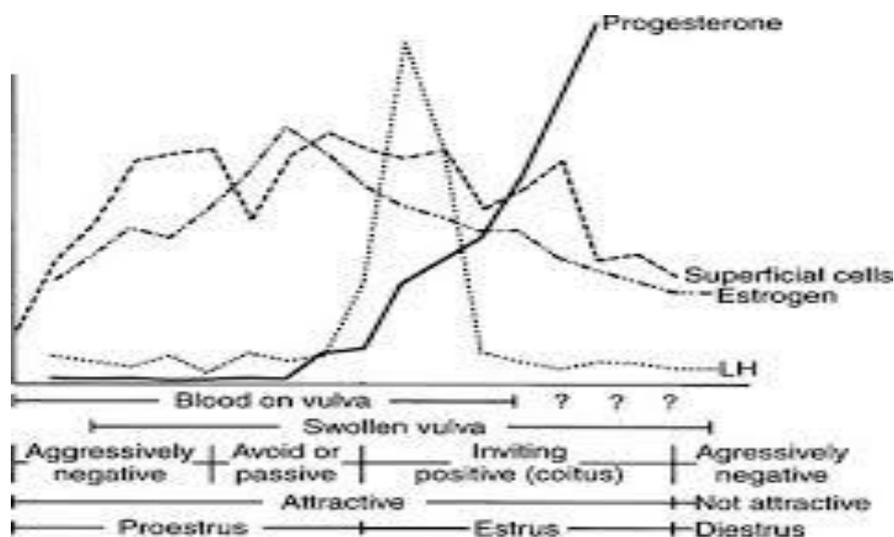


Figure 3 : Diagramme illustrant les fluctuations hormonales et comportementales de la chienne en phase de proœstrus, œstrus et dioœstrus. (FELDMAN et NELSON, 2004)

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

-Sur le plan comportemental :

La chienne en œstrus présente une attitude caractéristique d'acceptation de l'accouplement lorsque le mâle lui renifle la région vulvaire, elle vousse le dos en relevant la croupe (position de lordose) et elle dévie généralement la queue sur le côté (signe d'Amantéa), et ce de manière à rendre moins pénible la pénétration du pénis du chien. (FONTBONNE, 1996)

- **Dioestrus ou metoestrus**

-Sur le plan morphologique :

D'après FONTBONNE (2007), le dioestrus ou metoestrus représente la phase qui suit les chaleurs chez la chienne, pendant laquelle le gonflement vulvaire disparaît progressivement, ainsi que l'ardeur sexuelle. L'absence de pertes est aussi observée. Cependant chez certaines chiennes, une réapparition de pertes sanguine vulvaire peuvent être observées, et ce après les chaleurs pendant quelques jours. Ces dernières sont généralement foncées et plus ou moins glaireuses, filantes et nauséabondes. C'est l'équivalent de la période de menstruations chez la femme.

Mais en réalité, ce phénomène est assez rare chez la chienne, d'autant plus que le fait que ces écoulements aient disparu moyennement en quatre à cinq jours le rend sans conséquences. FONTBONNE (1996) affirme qu'au bout de trois semaines ou d'un mois, un phénomène qualifié de pseudo gestation (grossesse nerveuse) ou lactation de pseudo gestation (lactation nerveuse) est observé chez une chienne non géstante, il se caractérise par un élargissement du ventre, un durcissement et une turgescence des tétones, et parfois même une sécrétion de lait. Toutefois, il n'est que l'exacerbation d'un processus normal et n'est donc pas une maladie.

-Sur le plan interne :

C'est la phase lutéale pendant laquelle la progestérone est sécrétée par le corps jaune qui est une structure ovarienne transitoire formée d'un follicule remanié après l'ovulation. (FONTBONNE, 1996)

Des auteurs précisent que la sécrétion de progestérone se fait que la femelle soit gestante ou non. Le fonctionnement hormonal est donc identique dans les deux cas de figure, ceci expliquerait le phénomène de pseudo gestation ou de lactation nerveuse. De ce fait la progestérone est élevée en phase de dioestrus, ensuite diminue progressivement et devient inférieure à 2ng/ml à la fin de cette phase. (BLAZER et LOTH, 2012)

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Tandis que les œstrogènes présentent des concentrations basales entre 5 et 15pg/ml. (FELDMAN et NELSON 2004)

-Sur le plan comportemental :

En phase de dioestrus on observe une chienne plus calme, elle refuse à nouveau le mâle et présente parfois une augmentation de l'appétit. Cependant, dans les cas de gestation ou de lactation nerveuse son comportement peut être modifié. (FONTBONNE, 1996)

- **Anœstrus**

-Sur le plan morphologique :

FONTBONNE (1996) affirme que c'est la phase de repos sexuelle, l'auteur affirme que rien n'est visible chez la chienne, la vulve est petite et peu dilatée, les mamelles ne sont pas gonflées

-Sur le plan interne :

L'utérus préalablement soumis à une imprégnation progestéronique, subit une involution qui dure en moyenne deux mois. (FONTBONNE,1996)

L'activité hormonale continue selon FELDMAN et NELSON (2004), durant l'anœstrus la concentration des œstrogènes circulant est entre 5 et 15pg/ml.

-Sur le plan comportemental :

FONTBONNE (1996), affirme que la chienne en anœstrus est dans son état normal, non agitée et sans ardeur sexuelle.

1.1.7 Le cycle ovarien

Selon SAINT-DIZIER et CHASTANT- MAILLARD (2014), il représente une série de phénomènes liés à la maturation de l'ovocyte (ovogénèse) et des cellules folliculaires. Le cycle ovarien est décomposé en phase folliculaire, qui se déroule au cours des stades de pro-œstrus et d'œstrus ; et la phase lutéale, qui a lieu pendant le métœstrus, ces deux phases sont séparées par l'ovulation.

1.1.7.1 Phase folliculaire

D'après RAYNAUD et *al.* (2005), il se produit une croissance folliculaire pendant la période d'anoestrus. Au moment de l'entrée en chaleurs (prœstrus), de petits follicules mesurant de 1 à 1,5 mm de diamètre sont présents sur l'ovaire et commencent leur croissance terminale, atteignant 5 mm à la fin du prœstrus et jusqu'à 7 mm pendant la période de l'œstrus. Les

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

auteurs soulignent que la folliculogénèse est singulière chez la chienne, car de nombreux follicules ovariens contiennent plusieurs ovocytes (follicules poly-ovocytaires).

1.1.7.2 Ovulation

L'ovulation correspond à la libération d'un ou plusieurs ovocytes recueillis par les trompes utérines, par l'intermédiaire des fimbriae. (SAINT-DIZIER et CHASTANT- MAILLARD, 2014)

RAYNAUD *et al.* (2005) soulignent que contrairement à ce qui est observé chez les autres femelles de mammifères, au moment de l'ovulation, l'ovocyte est encore à un stade immature (prophase I, stade vésicule germinative) et la maturation ovocytaire se poursuit ensuite dans l'oviducte. CONCANNON (2011), affirme que les ovocytes primaires sont ovulés 48 à 60 h après la poussée de LH, et subissent une maturation de 96 à 108 h dans la région utérine distale tube (oviducte) et les ovocytes secondaires restent viables pour 24 à 48 heures supplémentaires chez la plupart des chiennes, 72 à 96 heures chez certaines chiennes et 120 à 144 h dans les cas extrêmes. D'après les statistiques de BLAZER et LOTH (2012), l'ovulation se produit en moyenne entre le 7^{ème} et le 15^{ème} jour des chaleurs, et la plupart des chiennes ovulent entre le 9^{ème} et le 12^{ème} jour des chaleurs, 10% après le 13^{ème} jour et moins de 10% avant le 9^{ème} jour.

1.1.7.3 Phase lutéale

D'après LUC (2005), elle correspond à la phase de sécrétion de progestérone par le corps jaune, en effet, après l'ovulation, les cellules de la granulosa entrent en différenciation et se transforment en cellules lutéales, ne sécrétant que de la progestérone. Elles forment ainsi une entité appelée corps jaune. Dans l'espèce canine le maintien du corps jaune est indépendant de la gestation.

1.2 Cytologie vaginale

Selon CONCANNON et DIGREGORIO (1986), l'épithélium vaginal est un Epithélium pavimenteux non kératinisé pluristratifié, Il est formé de plusieurs couches; de la plus profonde à la plus superficielle, on observe: (Fig.4)

- 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.
- une couche de cellules parabasales;

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

- une couche de cellules intermédiaires ;
- une couche de cellules superficielles.

Les différentes couches reflètent les différentes étapes subies par les cellules épithéliales vaginales qui sont : la prolifération, la différenciation et l'exfoliation (Fig.5). (SCHUTTE, 1967).

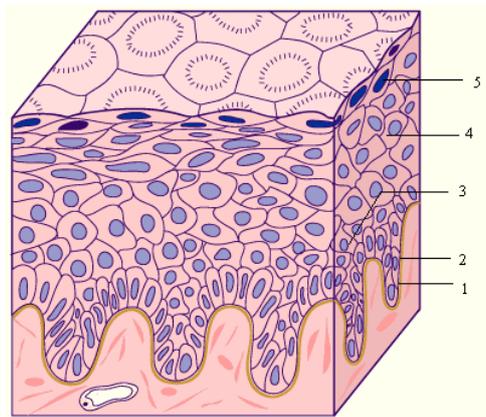


Figure 4 : Epithélium pavimenteux non kératinisé pluristratifié (LUC, 2003)

1 : lame basale, 2 : cellule germinative, 3 : cellule parabasale, 4 : cellule intermédiaire, 5 : cellule superficielle.

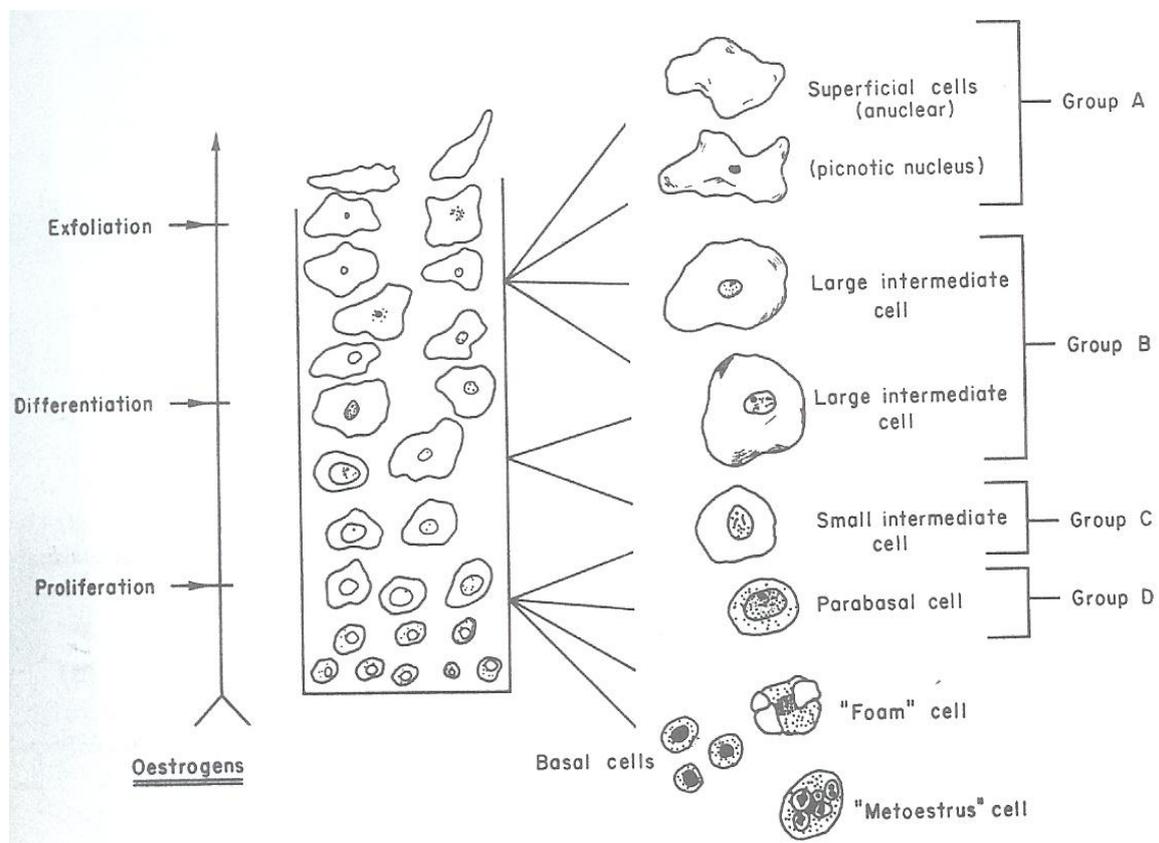


Figure 5 : Les cellules du frottis vaginal et leur processus de maturation (SCHUTTE, 1967)

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

En effet l'épithélium vaginal représente une cible pour de nombreuses hormones sexuelles, et subit ainsi des modifications très importantes en fonction des sécrétions hormonales, et par conséquent du cycle sexuel. L'étude de la cytologie vaginale grâce au frottis vaginal est donc un outil précieux dans la détermination de la phase du cycle, mais aussi dans la détection de pathologies. (CORRE et ROZENBAUM, 2004)

FELDMAN et NELSON (2004), affirment que l'imprégnation oestrogénique croissante de la muqueuse vaginale chez la chienne aboutit à l'épaississement la paroi vaginale (Fig.6), ce qui permet de protéger la chienne des effets traumatiques de l'accouplement. La couche cellulaire basale ou germinale est ordonnée, et les cellules sus-jacentes moins ordonnées sont éloignées de l'irrigation sanguine présente au-dessous de la couche germinale. La muqueuse vaginale pendant l'anœstrus n'a que quelques couches de cellules elle est donc relativement fragile. D'après JOHNSTON et *al.* (2001), la concentration croissante des œstrogènes associée au proœstrus provoque une multiplication rapide du nombre de couches cellulaires bordant le vagin, donnant une paroi de 20 à 30 couches plus épaisses à la fin du proœstrus. Ainsi, la pénétration du pénis dans le vagin préalablement imprégné par les œstrogènes est moins douloureuse. Ce nombre accru de couches cellulaire éloigne les cellules tapissant la lumière vaginale de la circulation sanguine, causant ainsi la mort de ces cellules. Ces dernières fonctionnent comme un tissu moins sensible et moins fragile. La fragilité diminue non seulement à cause de l'augmentation du nombre de couches cellulaires, mais aussi à cause du développement de précurseurs de la kératine dans ces cellules. La matière nucléaire est semblable à celle trouvée dans les ongles.

Le changement du pourcentage des cellules superficielles dans un frottis vaginal peut être utilisé pour suivre l'évolution du proœstrus et de l'oœstrus chez la chienne et pour prévoir les moments appropriés pour l'accouplement.

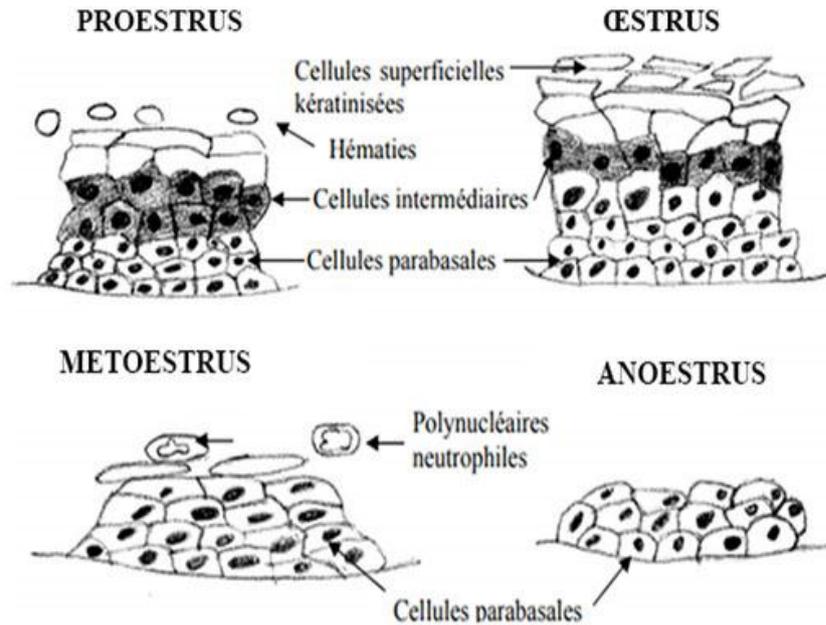


Figure 6 : Aspect des cellules vaginales en fonction du cycle sexuel

(CORRE et ROZENBAUM, 2004)

1.2.1 Classification des cellules de l'épithélium vaginal

Plusieurs chercheurs ont décrit les types de cellules trouvées dans les frottis vaginaux canins. Un système de classification basé sur la morphologie des cellules a été développé. Il décrit les différents types de cellules présentes dans l'épithélium au moment de la stimulation oestrogénique maximale, en commençant par la couche vaginale la plus profonde et en progressant jusqu'à la couche la plus proche de la lumière. (JOHNSTON et *al.*, 2001). D'après FELDMAN et NELSON (2004) les différents types de cellules représentent les stades de la mort cellulaire. Au fur à mesure que les cellules vaginales rondes en bonne santé meurent, elles deviennent de plus en plus grandes et de forme plus irrégulière. De plus, les noyaux au sein des cellules épithéliales vaginales subissent également des modifications qui reflètent la mort des cellules: les noyaux deviennent progressivement plus petits puis les pycnotiques, avant de desquamer et laissant ainsi une cellule anucléée.

- **Les cellules basales**

Ce sont de petites cellules rondes qui donnent naissance à tous les types de cellules épithéliales observées dans un frottis vaginal, elles ne sont généralement pas exfoliées, elles sont donc rarement observées sur un frottis vaginal. (JOHNSTON et *al.*, 2001).

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

- **Les cellules parabasales**

Ce sont les plus saines et petites cellules habituellement observées sur un frottis vaginal (Fig.7), d'un diamètre d'environ 10 à 20 µm, elles sont de forme ronde à ovale, possédant un noyau rond, volumineux et peu de cytoplasme. Elles ont donc le rapport nucléocytoplasmique le plus élevé et sont régulièrement exfoliées près de la couche de cellules germinales, près de l'apport sanguin sous-jacent. (JOHNSTON et *al.*, 2001).

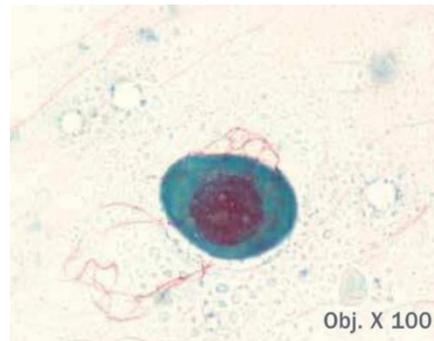


Figure 7 : Cellules parabasales (CHASTANT et ROSIN, 2016)

On peut néanmoins les observer en colonne (Fig.8), c'est-à-dire que le cytoplasme est étiré et que le noyau est excentré (Neveux 1999).

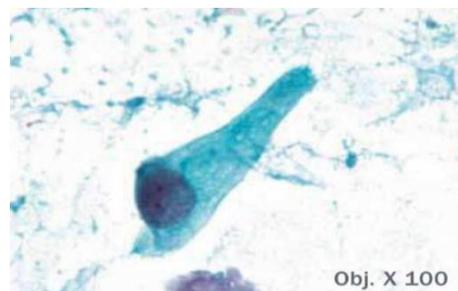


Figure 8 : Cellules parabasales en colonne (CHASTANT et ROSIN, 2016)

- **Les cellules intermédiaires**

D'après JOHNSTON et *al.* (2001), les cellules intermédiaires varient considérablement en taille, conduisant à de nombreux termes pour ces cellules. Les cellules intermédiaires plus petites sont appelées cellules petites intermédiaires (Fig.9), précoces, arrondies, intermédiaires basses et moyennes. Les cellules intermédiaires plus grosses ont été désignées par cellules grandes intermédiaires (Fig.10), elles sont tardives, polygonales, de transition et supérieures.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Le diamètre d'une cellule petite intermédiaire dépasse 20 μm tandis que le diamètre d'une cellule grande intermédiaire dépasse 30 μm . Bien que la petite cellule intermédiaire ait tendance à être arrondie ou ellipsoïde, une angularité du bord cytoplasmique a également été rapportée.

Les cellules grandes intermédiaires ont généralement une bordure cytoplasmique irrégulière ou angulée. Les deux types de cellules intermédiaires ont des noyaux proéminents qui semblent normaux. La grande cellule intermédiaire est parfois confondue avec la cellule superficielle car la taille des deux cellules est similaire.

En effet, FELDMAN et NELSON (2004) affirment que ce changement de morphologie représente la première étape de mort cellulaire.

Les cellules grandes intermédiaires représentaient « 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. (JOHNSTON *et al.*, 2001)

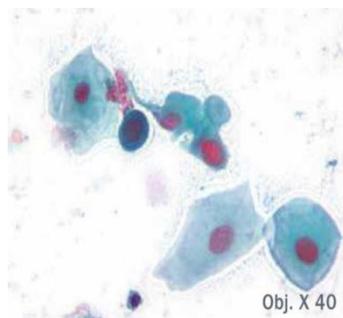


Figure 9 : Cellules petites intermédiaires
(CHASTANT et ROSIN, 2016)

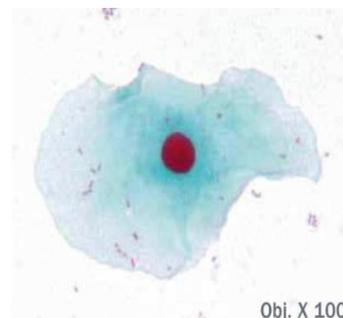


Figure 10 : Cellule grande intermédiaire
(CHASTANT et ROSIN, 2016)

- **Les cellules superficielles**

Il s'agit des plus grandes cellules épithéliales vaginales dont les diamètres est de 30 à 75 μm (Fig.11). elles sont nommés ainsi pour leur position superficielle dans l'épithélium vaginal au moment de la stimulation maximale en œstrogènes. Leurs bords cytoplasmiques sont irréguliers ou anguleux, semblables à celles d'une grande cellule intermédiaire.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Il faut souligner que contrairement aux grandes cellules intermédiaires, qui ont un noyau d'apparence normale, le noyau de la cellule superficielle est sombre, pycnotique, ou pâle, de ce fait il ne peut pas être distingué du cytoplasme adjacent après la coloration. Ces dernières sont également appelées cellules kératinisées, alors que les cellules parabasales et intermédiaires sont appelées cellules non kératinisées. La kératinisation fait référence au processus dégénératif qui transforme les cellules d'un épithélium squameux stratifié en cellules mortes. (JOHNSTON et *al.*, 2001)

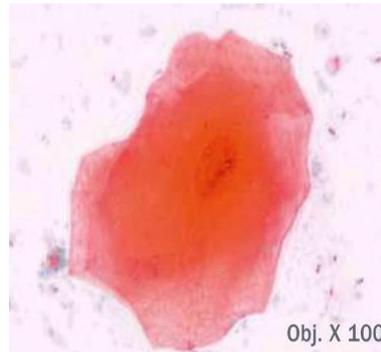


Figure 11 : Cellule superficielle (CHASTANT et ROSIN, 2016)

- **Les squames anucléées**

Les squames sont de grandes cellules mortes, de forme irrégulières, plate et aux bordures anguleuses, généralement annucléées, elles représentent la fin d'un processus qui a commencé avec des cellules parabasales rondes et saines. Cette mort cellulaire est causée par l'épaississement de la muqueuse vaginale. Cet épaississement est en réponse à l'augmentation des concentrations sériques d'œstrogènes.

Ces cellules sont également appelées cellules superficielles anucléées. Ces dernières sont également appelées cellules "entièrement kératinisées". (FELDMAN et NELSON, 2004) D'après LUC (2005), elles peuvent présenter un aspect de « corn-flakes ».

- **Les cellules metoestrales**

Les cellules metoestrales sont définies par JOHNSTON et *al.* (2001) comme étant des cellules non kératinisés qui semble contenir un polynucléaire neutrophile dans le cytoplasme (Fig.12). Ces cellules reflètent probablement les propriétés phagocytaires de l'épithélium vaginal. Bien que l'on ait signalé que les cellules de metoestrales apparaissent que pendant la phase lutéale du cycle de reproduction chez la chienne, elles pourraient être observées à chaque fois que des neutrophiles sont présents. Ces dernières peuvent également être présentes dans les frottis

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

vaginaux obtenus chez des chiennes présentant une vaginite, en particulier lorsque les neutrophiles sont abondant sur le frottis.



Figure 12 : Cellule métoestrale (CHASTANT et ROSIN, 2016)

- **Les cellules spumeuses ou « foam cells »**

D'après des auteurs ce sont des cellules parabasales ou intermédiaires qui contiennent de vacuoles cytoplasmiques (Fig.13), leur signification est inconnu, elles peuvent être associé avec le dioestrus et l'aneostrus. (JOHNSTON et *al.*, 2001)

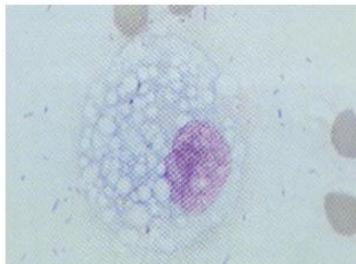


Figure 13 : Cellule spumeuse (CHASTANT et ROSIN, 2016)

- **Les cellules superficielles avec des corps cytoplasmiques**

Ce sont des cellules contenant de nombreux corps à coloration sombre dans le cytoplasme. Elles sont couramment observées sur des frottis vaginaux de chienne en oestrus, mais la source et la signification de ces corps cytoplasmiques sont inconnues.

Les corps cytoplasmiques peuvent être confondus avec des bactéries sur les frottis vaginaux, mais les bactéries sont plus et sont souvent observées en position extracellulaire. (JOHNSTON et *al.*, 2001)

- **Les cellules néoplasiques**

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Des cellules néoplasiques et d'autres cellules anormales peuvent être observées sur des frottis vaginaux. Les carcinomes à cellules transitionnelles, les adénocarcinomes mammaires métastatiques et les lymphosarcomes sont des types de tumeurs plus fréquents observés dans les frottis vaginaux. (JOHNSTON *et al.*, 2001)

- **Les cellules de la fosse clitoridienne**

Ce sont des cellules épithéliales kératinisées, fusiforme, elles peuvent être visualisées sur un frottis vaginal normal (Fig.14), en effet, elles sont abondante lorsque le prélèvement est mal effectué en d'autre terme l'orsqu'il est effectué dans la fosse clitoridienne au lieu du vagin, ces cellules peuvent être prélevées pendant l'œstrus et l'anoestrus .

(JOHNSTON *et al.*, 2001)

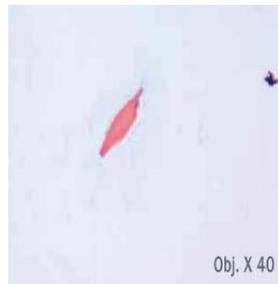


Figure 14 : Cellule de la fosse clitoridienne (CHASTANT et ROSIN, 2016)

- **Les globules rouges**

D'après JOHNSTON *et al.* (2001), les hématies peuvent être présentes sur les frottis vaginaux en phase de proestrus, d'œstrus ou en début de dioestrus. Ainsi pendant le proestrus, les concentrations sériques d'oestrogènes augmentent. Cette augmentation serait à l'origine de la diapédèse des globules rouges dans les capillaires utérins, par conséquent, les érythrocytes observés sur les frottis vaginaux seraient d'origine utérine. Cependant, les érythrocytes proviennent également du vagin, car ces dernières ont été observés sur des frottis vaginaux obtenus chez des chiennes en proestrus ayant subies une hystérectomie. Le nombre d'érythrocytes sur les frottis vaginaux de chiennes normales en œstrus est généralement inférieur à celui des frottis obtenus à partir de chiennes proestrus.

- **Les leucocytes**

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Les leucocytes peuvent être présents dans les frottis vaginaux obtenus à partir de chiennes normales. Les neutrophiles sont le type de globules blancs prédominant sur les frottis vaginaux normaux. (les lymphocytes et les éosinophiles sont rarement observés sur les frottis vaginaux normaux). Ces cellules sont généralement abondantes sur les frottis vaginaux obtenus chez des chiennes normales en début du dioestrus. Cependant, ils ne sont pas observés sur les frottis vaginaux de chiennes normales en œstrus, des auteurs affirment que c'est probablement parce que le diapédèse est impossible en raison de l'épithélium vaginal épais.

Il faut donc envisager la présence d'inflammation de l'utérus ou du vagin / du vestibule si des neutrophiles sont observés sur des frottis vaginaux de chiennes œstrus, une inflammation de l'utérus ou du vagin / du vestibule doit être envisagée. (JOHNSTON et *al.*, 2001)

- **Les bactéries**

On observe fréquemment des bactéries dans les frottis vaginaux obtenus chez des chiennes normales. Le nombre de bactéries peut augmenter de manière logarithmique dans les échantillons vaginaux obtenus pendant l'anoestrus, la grossesse ou le post-partum. (JOHNSTON et *al.*, 2001)

- **Les spermatozoïdes**

Les spermatozoïdes peuvent être visualisés lorsque la chienne a été accouplée (Fig.15). Bien que leur présence confirme un accouplement, leur absence n'élimine pas l'inverse. En effet dans une étude, seuls 65% des frottis obtenus 24 heures après un accouplement présentaient des spermatozoïdes. (JOHNSTON et *al.*, 2001).

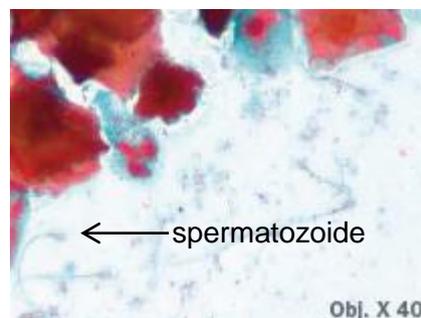


Figure 15 : Spermatozoïdes (CHASTANT et ROSIN, 2016)

1.2.2 Variation de la cytologie vaginale au cours du cycle

- **Proestrus**

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Précoce :

Selon FELDMAN et NELSON (2004), Le frottis vaginal d'une chienne en début de proestrus est semblable à celui d'une chienne en anoestrus, à une différence près : la présence de sang dans le vagin provenant principalement de l'endomètre. Il est donc caractérisé par la présence d'érythrocytes et d'un mélange de types cellulaires (Fig.16). En effet, il contient généralement de nombreuses petites et grandes cellules intermédiaires, ainsi que des cellules parabasales. De plus, les neutrophiles et les bactéries sont fréquemment visualisés en nombre variable. Le fond du frottis est souvent d'aspect granuleux ou sale, du fait de la présence de sécrétions visqueuses cervicales et vaginales.

Moyen :

Les auteurs précisent que première preuve d'un effet oestrogénique continu sur l'appareil reproducteur est visualisée dans la cytologie vaginale. Ceci inclus: disparition des neutrophiles, l'apparition des globules rouges et augmentation progressive du pourcentage de cellules superficielles remplaçant les cellules parabasales et les petites intermédiaires. Les globules blancs sont supposés pénétrer dans la lumière vaginale à travers la muqueuse, mais l'épaississement de la muqueuse vaginale empêche toute diapédèse. Donc les neutrophiles ne sont normalement pas visualisés dans les frottis vaginaux de chiennes entre le milieu du proestrus et le début du dioestrus. (FELDMAN et NELSON, 2004)

Tardif :

En fin de proestrus, le frottis vaginal ne contient pas de neutrophiles, la présence d'érythrocytes est variable et l'arrière-plan est clair. Plus de 80% des cellules vaginales exfoliées sont "superficielles", avec des noyaux vésiculés, des noyaux pycnotiques ou sans noyau.

En résumé, les cellules épithéliales vaginales au début du proestrus sont associées à 40% à 60% des cellules intermédiaires et au milieu du proestrus à 40% à 60% des cellules superficielles. plus de 60% à 80% des cellules superficielles sont observées au cours des derniers 1 à 6 jours de proestrus. (FELDMAN et NELSON, 2004).

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

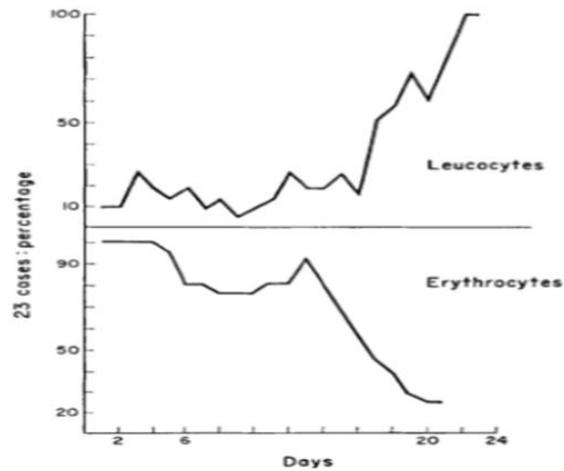


Figure 16 : variations de la concentration en leucocytes et en érythrocytes (le jour 1 correspond ici au 1er jour du pro-œstrus) (Schutte, 1967)

• Œstrus

Sur les frottis vaginaux d'une chienne en œstrus, les neutrophiles sont généralement absents et les érythrocytes diminuent en nombre par rapport aux frottis du proœstrus, ainsi les cellules superficielles prédominent. Aussi un grand nombre de bactéries sont fréquemment observées. (JOHNSTON et *al.*, 2001).

Ainsi, aucune caractéristique de la cytologie vaginale n'identifie le jour du pic de LH, de l'ovulation ou le moment de la fécondation.

Elle exfoliative semble plutôt refléter la concentration d'oestrogènes dans le sérum, Les cellules superficielles et les squames annuclées représentent plus de 80% du total des cellules vaginales, atteignant souvent 100%, ces cellules sont alors présentes en grande quantité pendant toute la durée des chaleurs. (FELDMAN et NELSON, 2004).

Les auteurs (JOHNSTON et *al.*, 2001) précisent qu'en l'absence de neutrophiles, la présence de bactéries diverses au cours de l'œstrus doit être considérée comme normale et que le fond du frottis en œstrus est très dépourvu de débris cellulaires.

Il est extrêmement utile de rappeler que des études ont démontré que le premier jour où 80 à 90% des cellules épithéliales vaginales avaient un type superficiel variait de 6 à 4 jours après l'apparition du pic LH. (FELDMAN et NELSON, 2004).

• Dioestrus

Selon JOHNSTON et *al.* (2001), un changement brutal du nombre relatif de types de cellules épithéliales dans le frottis vaginal marque l'apparition du dioestrus cytologique. Comme indiqué précédemment, le nombre de cellules superficielles tend à diminuer tandis que le nombre de cellules intermédiaires et parabasales augmente (Fig.17). Les neutrophiles peuvent

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

réapparaître au début du diestrus mais peuvent précéder les changements dans les types de cellules épithéliales ou apparaître bien après. Aussi, des cellules épithéliales peuvent parfois sembler contenir un neutrophile dans le cytoplasme (cellules métoestral). Certains frottis vaginaux ont peu ou pas de neutrophiles au début du dioestrus, et des érythrocytes sont fréquemment présents.

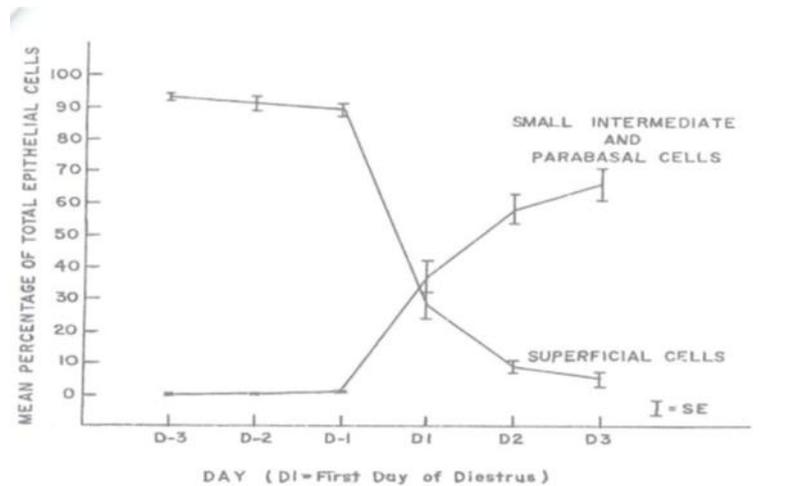
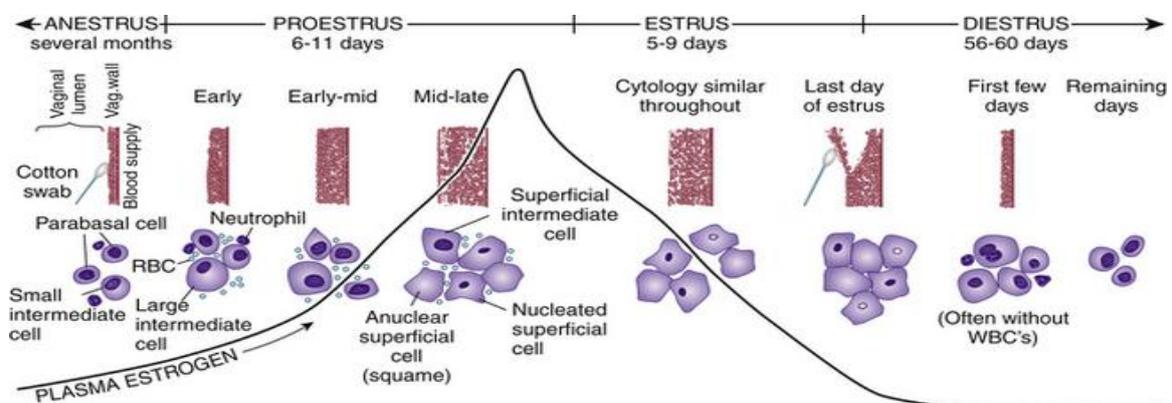


Figure 17 : Schéma typique de la modification des cellules épithéliales vaginales à la survenue du métoestrus. (LUC, 2003)

- **Anoestrus**

Les cellules parabasales et les petites cellules intermédiaires sont les types de cellules prédominants présents sur les frottis vaginaux de chiennes anoestrus. Comme les frottis au cours du proestrus, du dioestrus et de l'anoestrus peuvent tous sembler similaires, en particulier en l'absence de neutrophiles et d'érythrocytes, il est difficile de déterminer le stade du cycle de reproduction d'une chienne sur la base d'un seul frottis vaginal, il est donc préférable d'établir un suivi au cours du cycle oestral. (JOHNSTON et al., 2001)



Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Figure 18 : illustration des modifications de l'épaisseur de la paroi vaginale, de la cytologie vaginale et de la concentration plasmatique relative en œstrogènes chez une chienne moyenne présentant un cycle œstral. (FELDMAN et NELSON, 2004)

Cell type		Prooestrus		Oestrus		Early metoestrus	Anoestrus	Vaginitis pyometra
		Early	Late	Early	Late			
Parabasal		+++	+	-	-	-	++	±
Small intermediate		+++	++	-	-	+	+	±
Large intermediate		±	++	+++	+++	-	-	±
Anuclear keratinized		-	++	++++	+++	±	-	-
Red blood		+	+++	++	-	-	±	±
Neutrophils		+	-	-	+	+++	+	++++

Figure 19 : Changements dans les types de cellules et leur nombre relatif dans les frottis vaginaux de la chienne au cours des différentes étapes du cycle œstral. (ROBINSON et NOAKES, 2019)

1.3 Détection des chaleurs chez la chienne

Selon LEVY (2007), les différents changements qui opèrent lors de la venue des chaleurs ont permis d'établir de multiples critères plus ou moins subjectifs afin de s'aider pour repérer le moment idéal, tel que les modifications morphologiques et comportementales. Mais il existe un important taux d'erreur en raison des ovulations qui peuvent être soit précoces ou au contraire plus tardives selon l'individu.

La détermination du moment de l'accouplement est d'une importance majeure pour la saillie ou l'insémination artificielle pendant la période fécondante de la femelle n'est pas toujours facile à repérer. Les éleveurs et les propriétaires se sont longtemps référés à ces critères subjectifs pour cibler l'ovulation mais leur fiabilité n'étant pas certaine, des examens complémentaires plus « objectives » ont été élaborés et étudiés pour détecter le moment idéal. (THOMASSEN, 2009)

1.3.1 Critères subjectifs

Ils reposent principalement sur les commémoratifs et renseignent approximativement sur la phase du cycle en fonction de l'âge de la femelle, la date de ses dernières chaleurs, un comportement typique de l'œstrus et une observation de la vulve et du tissu mammaire. Compte tenu des trop grandes variations, il est impossible d'estimer le moment de

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

l'ovulation uniquement en se basant sur les modifications comportementales et anatomiques observées. (LEVY ,2007)

1.3.1.1 Le nombre de jours de chaleurs

FONTBONNE (1996) rapporte que ce critère est utilisé en élevage, il considère qu'une chienne est fécondable (ou prête) entre le 9^{ème} et 15^{ème} jours de ses chaleurs, néanmoins cette valeur reste imparfaite, il a été démontré qu'au moins un tiers des chiennes sont en période optimale en dehors de ce créneau classiquement cité. Certaines femelles sont fécondables très précocement dès le 5^{ème} voir le 6^{ème} jour des chaleurs, tandis que d'autres sont prêtes très tardivement vers le 18^{ème} ou le 25^{ème} jour, ce phénomène est connu chez quelques races de chiennes (Lévriers , berger allemands..).De plus le nombre de jours de chaleurs peut varier chez le même individu, ce qui prouve que ce critère reste peu fiable.

1.3.1.2 L'acceptation du male par la chienne

D'après FONTBONNE (1996), l'accouplement peut être réalisé et la chienne peut accepter le coït sans qu'elle soit forcément prête. L'observation de ce signe est très inconstant, car certaines femelles dominantes refusent tout accouplement durant leurs chaleurs, de plus des études ont prouvé que la plupart des chiennes commencent à accepter le male 2 jours avant l'ovulation, c'est-à-dire 4 à 5 jours au minimum avant leur période fécondante, ce qu'il en résulte des saillies trop précoces, si elles ne sont pas renouvelées elles débouchent sur des infertilités ou une baisse de la prolificité.

1.3.1.3 L'aspect des écoulements vulvaires

Selon PHEMISTER (1973), les pertes vulvaires sont généralement abondantes et hémorragiques pendant le pro-œstrus et elles se raréfient et deviennent plus claires au cours de l'œstrus. L'ovulation a lieu 2 à 3 jours après le changement d'aspect des écoulements.

Malheureusement, certaines chiennes de certaines races (chowchow par exemple) perdent du sang tout au long de leurs chaleurs , sans aucune diminution apparente au moment optimal , un tel critère est dans ce cas totalement inutile. (FONTBONNE, 1996)

1.3.2 Les critères objectifs

1.3.2.1 La mesure de la résistivité du mucus vaginal

Cette technique consiste à mesurer la conductance électrique (mesurée en ohms) du mucus vaginal en moyen d'une sonde introduite dans le vagin, afin de détecter le moment opportun pour la saillie. Il est vrai qu'il existe une corrélation entre la kératinisation des cellules de

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

l'épithélium vaginal et la variation de la résistivité du mucus, cette dernière augmente à l'approche de l'ovulation (Fig.22). (DUMON, 1992)

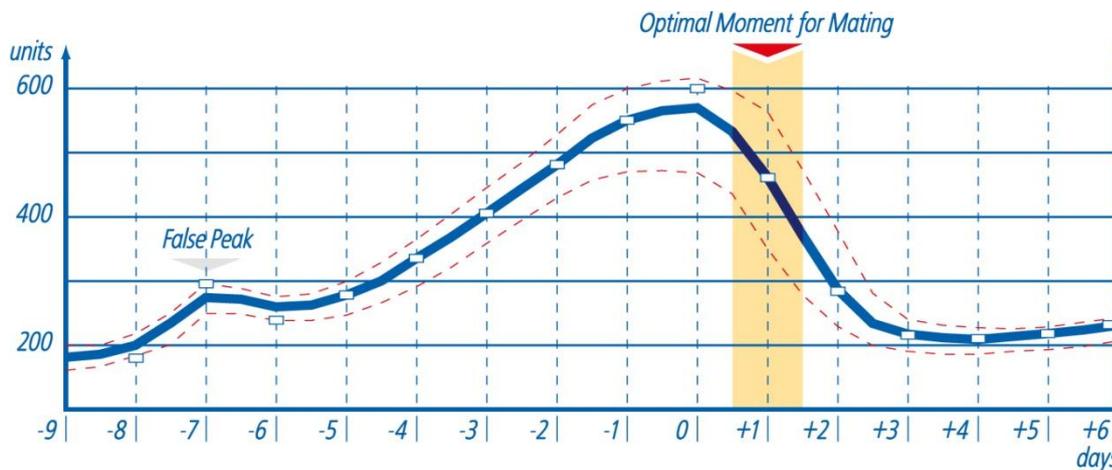


Figure 20 : Courbe typique des variations de la résistance du mucus vaginal chez la chienne [2]

D'après FONTBONNE (1996), une étude a été menée à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort sur 26 femelles beagles, pour évaluer la précision du dispositif. Il a été remarqué que lors des chaleurs, la résistivité augmente jusqu'à atteindre un maximum, avant de baisser brutalement. Chez 80% des individus la décadence de la résistivité a lieu 24h autour de l'ovulation, ce qui a confirmé une bonne fiabilité dans la détection du moment de la saillie.

Néanmoins, les 20% des chiennes dont les variations ne sont pas suffisamment prononcées pour déterminer l'ovulation, ne sont pas négligeables. La position de la sonde dans le vagin est un facteur qui influence les résultats, en effet la meilleure détection est obtenue lorsque la sonde est placée au milieu du vagin et dans la même région tout au long du suivi.

En définitive, la mesure de la résistivité est un simple moyen de détection de l'ovulation mais pour une meilleure précision il faut la corrélée avec des dosages de progestérone.

1.3.2.2 Aspect endoscopique du vagin

C'est un examen direct des parois du vagin pour apprécier l'appareil reproducteur post-utérin de la chienne il se fait à l'aide d'un endoscope rigide ou souple, elle est bien tolérée par la chienne debout non datée. L'examen est basé sur l'observation des variations de la muqueuse vaginale et des sécrétions présentes qui sont influencées par les hormones, il est donc possible de déterminer la phase du cycle. (LEVY et FONTBONNE, 2007)

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Au cours du proestrus la muqueuse est fortement œdématisée, gonflée et rose (Fig.21) avec des sécrétions séro-hémorragiques , ces effets sont dus à l'augmentation des concentrations d'œstrogènes progressivement le vagin devient plus sec , anguleux et prends une coloration moins rose au moment de l'œstrus elle correspond à l'augmentation de la LH (lutéotropine hormone). (FELDMAN et NELSON, 2004)



Figure 21 : Aspect de la muqueuse vaginale au moment de l'œstrus: Plis vaginaux anguleux (STORZ, 2019)

En règle général FONTBONNE (1996) affirme que les cellules vaginales se modifient a la même allure que l'aspect de la paroi vaginale, c'est pour cela que dans les pays anglo-saxons les frottis vaginaux sont remplacées par l'examen endoscopique du vagin.

1.3.2.3 Utilisation des bandelettes réactives

Le principe repose sur l'introduction dans le vagin de la femelle en chaleurs des petites bandelettes colorées à l'aide d'une pince spécifique , ces dernières changent de couleurs en fonction de la décharge de glucose et un changement de l'acidité du vagin (pH) ce phénomène indiquerait quand la chienne serait dite « prête ».Cependant, ces bandelettes sont très peu fiables. (FONTBONNE, 1996)

1.3.2.4 Frottis vaginal

1.3.2.4.1 Définition

FELDMAN et NELSON (2004) décrivent le frottis comme étant un examen clinique génital simple à réaliser et peu onéreux qui consiste à effectuer un prélèvement de cellules vaginales à l'aide d'un écouvillon introduit au fond du vagin, puis à l'étaler sur une lame, qui est ensuite colorée. La coloration la plus adaptée est celle de Harris-Shorr, on peut alors calculer l'index éosinophilie ou index de kératinisation (pourcentage de cellules kératinisées).

Les cellules de l'épithélium vaginal subissent des modifications sous l'action des hormones activées pendant les chaleurs, en particulier les œstrogènes produits durant le pro-œstrus. En effet les cellules se différencient et se kératinisent ce qui constitue un outil profitable pour

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

déterminer approximativement le pro œstrus, l'œstrus et le début de metœstrus, et pour donner une estimation du moment de l'ovulation.(JOHNSTON et *al.*, 2001)

FONTBONNE et GRELLET (2011) affirment que les frottis doivent être renouveler plusieurs fois au cours d'une période de chaleurs, afin d'apprécier la vitesse d'évolution des changements subis par les cellules car un frottis isolé n'a que peu d'intérêt dans le suivi des chaleurs de la femelle

1.3.2.4.2 Lecture et interprétation du frottis

D'après LEVY et FONTBONNE (2007), les paramètres spécifiques permettant la lecture du frottis vaginal sont cités ci-dessous:

- Aspect et types cellulaires : forme, taille, noyau.
- Couleurs des cellules épithéliales après étalement et coloration (Coloration de Harris-Shorr)
- Autres cellules observées : Leucocytes, Hématies, Micro-organisme.

1.3.2.4.3 Intérêts et limites du frottis

FELDMAN et NELSON (2004) affirment que les frottis vaginaux sont d'autant plus avantageux car ils permettent de nombreuses pratiques en plus de définir la phase du cycle de la chienne :

- Prédire la date de la mise bas : La parturition a lieu approximativement le 57^{ème} jour du dioestrus. Pour reconnaître le 1^{er} jour du dioestrus , il est indispensable d'effectuer une série de frottis de la chienne ainsi cette méthode est beaucoup plus efficace que l'utilisation des dates de saillies .
- Identifier des problèmes d'infertilités car la cytologie vaginale est un bon représentant de la concentration plasmatique en œstrogènes et de l'activité des follicules ovariens .
- Diagnostiquer des kystes folliculaires suite à une persistance du proestrus et/ou de l'œstrus, bien que le diagnostic se fasse idéalement par une échographie abdominale.
- Diagnostiquer une vaginite qui se caractérise par un nombre anormalement important de neutrophiles dégénérés ou non contenant des vacuoles d'internalisations de bactéries.
- Diagnostiquer des tumeurs vaginales par visualisations de cellules tumorales sur le frottis.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

-Indiquer qu'il y ait eu une saillie non souhaitée par identification de spermatozoïdes ou de leurs têtes sur le frottis.

Cependant, il existe certaines contraintes :

- l'ovulation ne peut être déterminée avec précision par cette méthode due aux grandes variations selon les chiennes et les cycles. Un dosage hormonal ou une échographie ovarienne sont nécessaires.

-La similitude du frottis de fin de pro-œstrus et de début de diœstrus rend leur différenciation difficile compte tenu des proportions cellulaires semblables.

1.3.2.4.4 Réalisation du frottis

Le prélèvement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile, préalablement humidifié avec du sérum physiologique ou d'un spéculum, les lèvres vulvaires sont séparées par le pouce et l'index ensuite l'écouvillon est introduit le long de la commissure dorsale de la vulve avec une orientation presque verticale afin d'éviter la fosse clitoridienne, puis il est basculé vers l'avant à l'horizontale, parallèlement au vagin et on effectue des rotations de l'écouvillon contre la paroi vaginale pour recueillir les cellules épithéliales. Enfin il est retiré lentement (Fig.22). (FELDMAN et NELSON, 2004)

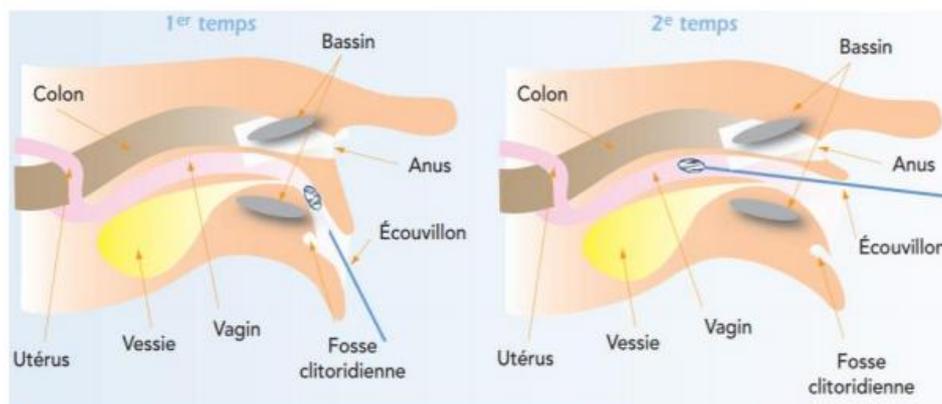


Figure 22 : Technique d'écouvillonnage vaginal chez la chienne (GOGNY, 2010)

L'étalement sur une lame stérile se fait en exerçant une pression ferme sans frotter afin d'éviter de endommager les cellules, puis il est séché à l'air libre et immédiatement fixé par un mélange alcool-ether ou un spray fixateur, ce qui permet de conserver le frottis 15 jours avant de le colorer. (CORNELOUN, 2011)

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

1.3.2.4.5 Types de colorations du frottis

1.3.2.4.5.1 Coloration unichrome

- **May-Grünwald-Giemsa modifié (DIFF-QUICK)**

Diff-Quik est une coloration très pratique pour les frottis vaginaux, elle est rapide à réaliser, et de nombreux vétérinaires possèdent les colorants qui sont les mêmes que ceux utilisés pour la coloration des frottis sanguins (RAL 555®, Diff-Quick®) (Fig.23). Elle consiste en deux solutions: une solution éosinophile (rouge) et une coloration basophile (bleue). Il est préférable d'avoir un petit contenant de chaque composant et changer les colorants avec une certaine régularité, car elles seront contaminées par des cellules vaginales après avoir coloré plusieurs lames. La lame est séchée à l'air libre puis elle est plongée successivement dans 3 bains différents. Si la lame a été préalablement fixée par un cytofixateur, il n'est pas nécessaire de la plonger dans le méthanol. Toutes les cellules vaginales, quel que soit leur degré de kératinisation apparaît uniformément bleu-violet (Fig.24). Elles ne sont alors appréciables que par leurs seuls critères morphologiques Cette technique permet une très bonne visualisation des polynucléaires neutrophiles et des hématies. (NEVEUX,1999).



Figure 23 : Les solutions Diff-Quick®

Tableau 1: Protocole de coloration Diff-Quick®(Notice d'utilisation Diff-Quick®)

Ordre de passage	Solution	Durée
1	Méthanol	5 Passages
2	Solution 1 Eosine Y	5 Passages
3	Solution 2 Colorant de thiazine	5 Passages

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

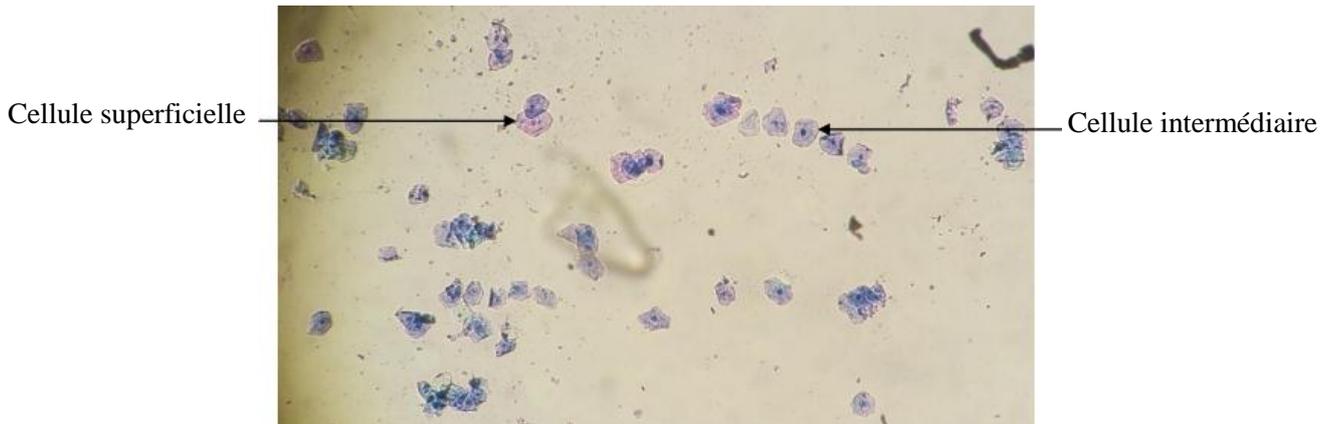


Figure 24 : frottis vaginal coloré avec la méthode Diff-Quick® au grossissement 100 (DUTEY, 2015)

MOXON et *al.* (2010) ont mené une étude comparative de la concordance de lecture des frottis vaginaux colorés avec le protocole Diff-Quick® (Rapi-Diff II®) entre un technicien expérimenté et trois novices et de d'évaluer la variabilité d'interprétations intra-technicien. Les résultats étaient précis quand les frottis étaient analysés par l'opérateur expérimenté, par contre ils ont noté une grande variabilité dans la classification des cellules (notamment des cellules parabasales et des cellules intermédiaires) par les techniciens non expérimentés. Une certaine expérience est requise afin d'interpréter correctement les frottis colorés de cette façon. (JOHNSTON et *al.*, 2001)

- **Bleu de méthylène**

Selon JOHNSTON et *al.* (2001), ce réactif n'est presque plus utilisé à l'heure actuelle. La coloration consiste en plaçant une goutte de solution de colorant sur la lame, puis une lamelle est apposée. Elle est rapide et peu coûteuse, grâce à laquelle la visualisation de la morphologie cellulaire est bonne. Cependant elle ne permet pas la conservation des lames. En outre, elle ne met pas en évidence les affinités tinctoriales, et ne colore pas les hématies, ce qui rend parfois l'interprétation difficile .

1.3.2.4.5.2 Colorations plurichromes

- **Harris-Shorr traditionnel**

Cette coloration trichrome a été mise au point par Ephraïm Shorr en 1940. Elle a pour avantage de colorer les précurseurs cytoplasmiques de la kératine en orange (Fig.25).

Ainsi, les cellules sont distinguées selon leur affinité tinctoriale et non plus seulement sur des critères morphologiques. (OLSON et *al.*, 1984)

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

NEVEUX (1999) affirme que cette coloration offre une lecture aisée, les cellules parabasales et intermédiaires (basophiles) apparaissent bleues, et les cellules superficielles (acidophiles) rouges orangées au fur et à mesure que la kératinisation progresse. Néanmoins sa durée est d'environ une quinzaine de minutes, ce qui consitue l'une des techniques les plus longues, en plus du nombre de récipients nécessaires. (FELDMAN et NELSON, 2004)

Aujourd'hui, il existe comme alternative des kits simplifiés de coloration tels que le kit Diag-Oestro RAL qui diminue le nombre de manipulations et fournit les réactifs en petite quantité.

Tableau 2: protocole de coloration de Harris Shorr (Neveux, 1999)

Ordre de passage	Produits temps	Temps
1	Mélange alcool-ether ½	5 minutes
2	Alcool à 70°	Plonger 10 fois
3	Alcool à 50°	Plonger 10 fois
4	Eau distillée	Plonger 10 fois
5	Hématoxyline de Harris	2 minutes
6	Eau distillé	1 passage
7	Eau distillé	1 passage
8	Alcool ammoniacal	1 passage
9	Eau distillé	1 passage
10	Alcool à 70°	1 passage
11	Alcool à 95°	1 passage
12	Colorant de Shorr	2 minutes
13	Alcool à 95°	1 passage
14	Alcool à 100°	1 passage

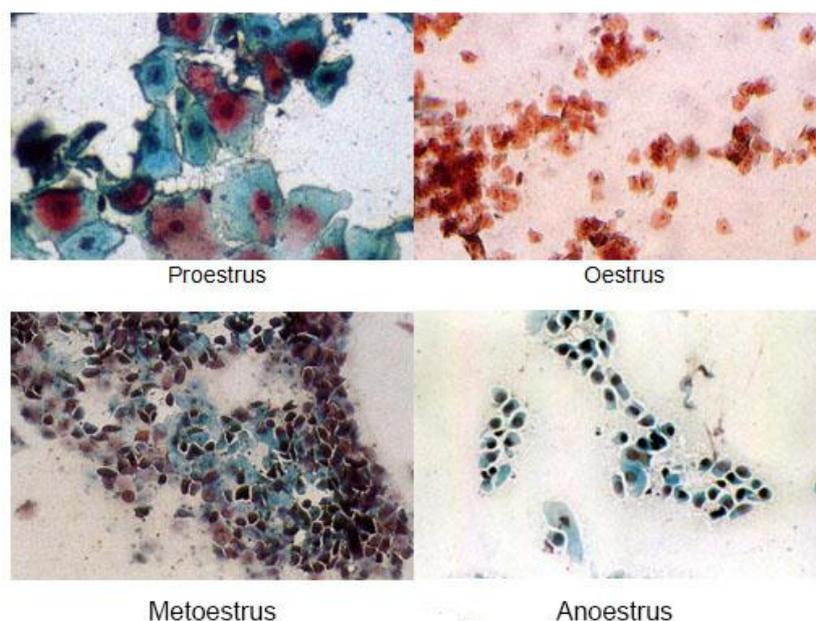


Figure 25 : Frottis des différentes phases coloré par le trichrome d'Harris Shorr (LUC,2005)

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

-Définition de l'index éosinophilique :

La coloration de Shorr permet de calculer l'index éosinophilique qui correspond au rapport entre le nombre de cellules éosinophiles et le nombre de cellules capables de se kératiniser, une formule simplifiée a été mise en place pour calculer cet index :

$$IE = \frac{\text{Nombre de cellules acidophiles}}{\text{Nombre de cellules total}}$$

L'index éosinophilique varie au cours du cycle sexuel. Il est quasiment nul en début de pro-œstrus. Il augmente ensuite progressivement à la suite de l'augmentation de la concentration en œstrogènes qui provoque la kératinisation des cellules jusqu'à atteindre un pic.

(DUTEY, 2015)

- **Papanicolaou**

C'est une coloration pentachrome , constitué de 5 colorants , elle a été décrite par Georges Papanicolaou en 1942. Elle permet la coloration des cellules superficielles en rose orangé ; les cellules intermédiaires apparaissent bleu vert, les cellules plus profondes, vert plus franc, et les noyaux bleu violet. (SCHUTTE, 1967)

C'est la coloration des frottis vaginaux chez la femme, mais cette technique n'a pas été utilisée pour colorer les frottis vaginaux chez la chienne dans la littérature.

1.3.2.5 Dosage de la progestérone

WRIGHT (1990) démontre que pendant l'anoestrus, la progestérone présente des valeurs inférieures à 1 ng/ml puis elle augmente juste avant , en même temps ou juste après le pic de LH car l'hormone Lutéotrope stimule la maturation finale des follicules ovariens entraînant la lutéinisation pré-ovulatoire .

D'après DE GIER (2006), la progesterone commence donc à être synthétisée avant l'ovulation , ce qui est une particularité du cycle oestral chez la chienne. Son dosage est ainsi important dans le suivi des chaleurs, il permet de déterminer le moment de l'ovulation.

En effet FONTBONNE (2008) affirme que le taux de progestérone au moment de l'ovulation est d'environ 5 ng/ml et qu'il reste constant à ce moment-là , quel que soit la race. Cependant, le dosage de la progestéronémie nécessite que les laboratoires effectuant ces mesures doivent être étalonnés, car la valeur absolue obtenue est propre au laboratoire. Il doit disposer de

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

plusieurs échantillons de plasma de chienne en période d'ovulation, qui seront dosés afin de déterminer leur propre valeur de progestéronémie.

1.3.2.6 Dosage de la LH

Selon DE GIER et al. (2006) le pic de LH a lieu environ 48 heures avant l'ovulation chez la chienne. Il se produit lors de la transition entre le pro-œstrus, et l'œstrus, mais il est de courte durée, et parfois bifide.

Pour cela, plusieurs prises de sang par jour doivent être effectuées (au moins trois par jour afin de ne pas manquer ce pic), ce qui est difficile à réaliser en pratique sans hospitaliser le chien. Cependant, les auteurs pensent qu'il ne s'agit pas d'une bonne méthode de détermination de l'ovulation car il existe de grandes variations entre les individus, dans la forme et l'amplitude du pic de LH.

1.3.2.7 Echographie ovarienne

Selon CONCANNON (2003), l'échographie ovarienne permet de visualiser l'évolution de l'aspect des ovaires et donc de l'ovulation. Pour réaliser cet examen, il est recommandé d'utiliser des sondes linéaires ou curvilinéaires à haute fréquence, l'animale est en décubitus dorso-latéral et la sonde est placée au niveau du flanc (Fig.26). Les images sont plus difficiles à analyser que dans la plupart des espèces.

Durant l'anoestrus, les ovaires sont difficilement visualisables du fait que les ovaires ont une échogénicité semblable à celle des structures avoisinantes et des follicules qui sont de petite taille.



Figure 26 : positionnement de la chienne et de la sonde lors de l'échographie ovarienne (CLERO, 2009)

D'après LEVY (2007), pendant le proestrus les follicules ovariens apparaissent comme de petites structures sphériques anéchogènes entourés d'une paroi fine, puis leur diamètre augmente et leur paroi s'épaissit et devient hyperéchogène dans les jours qui précèdent l'ovulation.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

FONTBONNE (2006) décrit ce processus par la luteinisation pré-ovulatoire des follicules (Fig.27). Le jour de l'ovulation, il est possible d'observer une disparition brutale des images folliculaires, l'ovaire présente une structure d'échogénicité homogène. L'examen échographique des ovaires augmente de seulement 10% la précision de détection de l'ovulation par rapport au dosage de la progestérone.

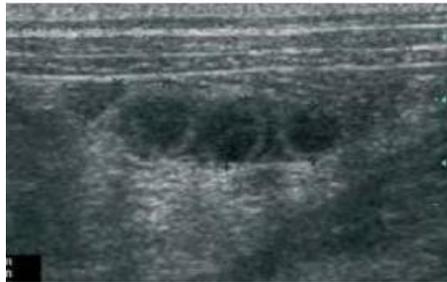


Figure 27 : Aspect des ovaires en période pré-ovulatoire par l'échographie ovarienne (FONTBONNE, 2006)

1.4 Les affections de l'appareil génital de la femelle

• Vaginite

Selon MIALOT *et al.* (1984), il s'agit d'une affection non spécifique relativement fréquente, souvent à l'origine d'infécondité.

En effet, la chienne présente des pertes constituées d'un exsudat de couleur et de consistance variable et la muqueuse vaginale est congestionnée, elle présente de petits nodules surélevés, rouges de 1 à 2 mm de diamètre (amas lymphocytaires).

Le diagnostic repose sur l'examen vaginal complet, ainsi que des examens complémentaires, qui consistent à faire : un prélèvement urinaire, afin de vérifier l'existence d'une cystite concomitante ; un frottis vaginal (leucocytes et bactéries en grand nombre) ; un examen bactériologique.

Pour une bonne guérison il est nécessaire d'appliquer un traitement local à base d'antiseptiques et d'antibiotiques.

• Métrite

D'après MIALOT *et al.* (1984) il s'agit d'une inflammation utérine, d'origine bactérienne, s'observant le plus souvent après une mise bas ou un avortement, elle est aussi favorisée par :

-un retard de l'involution utérine

-lésion de l'appareil génital

-baisse de résistance de l'organisme surtout chez les animaux âgés, lorsque l'alimentation est déséquilibré ou lors de maladies intercurrentes.

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

Elle se manifeste par une atteinte de l'état général et des écoulements vulvaires peu abondants sauf en cas de rétention placentaire, la palpation abdominal est douloureuse.

Le traitement consiste en l'administration par voie générale d'anti-infectieux ainsi qu'à un traitement symptomatique.

- **Pyomètre**

Selon BLAZER et LOTH (2012), le pyomètre est une infection bactérienne de l'utérus se traduisant par l'accumulation de pus dans celui-ci, il survient généralement lentement 1 à 2 mois après les chaleurs suite à une contamination de l'utérus pendant cette période puis une surinfection bactérienne.

Ce dernier est couramment diagnostiqué chez les chiennes adultes non stérilisées. Selon BOUSQUET-MELOU (2006), le pyomètre chez la chienne, comme beaucoup d'affections de l'appareil génital femelle, est majoritairement d'origine hormonale. En effet, lors du méoestrus, l'imprégnation progestéronique provoque la sécrétion de mucus par les glandes endométriales. Celui-ci s'accumule dans les cavités génitales, l'utérus devient donc un milieu favorable au développement des bactéries.

Le pyomètre est dit ouvert lorsque le pus s'écoule par la vulve de la chienne, toute fois l'utérus peut rester clos, le pus s'accumule alors dans l'utérus, on parle alors de pyomètre fermé.

La variété des manifestations cliniques provient de la diversité des lésions génitales et extra-génitales, rénale en particulier. (MIALOT et *al.*, 1984)

Selon FELDMAN et NELSON (2004), le diagnostic du pyomètre ne doit en aucun cas être confirmé ou éliminé sur les bases de résultats de cytologie ou de cultures vaginales, car les résultats sont peu fiables et non spécifiques dans les cas de chiennes atteintes de pyomètre, en effet, la présence de neutrophiles et de bactéries sur les cytologies vaginales peut être présente aussi bien chez les chiennes normales que chez celles avec un pyomètre. Cependant, les frottis vaginaux d'une chienne avec un pyomètre au col ouvert contiennent souvent des neutrophiles dégénérés.

- **Sarcome de sticker**

Appelé aussi tumeur vénérienne transmissible, est une affection néoplasique des canidés, elle est sexuellement transmissible et atteint les muqueuses génitales des chiens mâles et femelles

Chapitre 1 : Données bibliographiques relatives à la reproduction de la chienne

pubères. La contamination se fait par greffe cellulaire lors de l'accouplement. Des transmissions par contact indirect ont été très rarement décrites (léchage), mais sont à l'origine de tumeurs extra-génitales. La forme simple est la plus classique. Elle reste limitée à la muqueuse génitale (vulve, vestibule, vagin, prépuce, pénis), ces tumeurs se présentent sous forme de masses constituées de nodules solitaires ou multiples irréguliers et friables susceptibles de s'ulcérer. En effet, ces tumeurs peuvent prendre une forme en « chou-fleur », cependant le sarcome sticher chez la chienne se présente généralement sous forme de masses sur la paroi vaginale, il se peut que ces dernières se propagent au vestibule, à la vulve, aux lèvres, au col de l'utérus et à l'utérus, Elles peuvent être grises ou gris rosé. L'examen de frottis vaginaux après coloration est considéré comme étant une méthode précise de diagnostic. (FELDMAN et NELSON 2004).

D'après RIVIERE et *al.* (2017), la population cellulaire tumorale est une population polymorphe de cellules isolées ou rassemblées en paquets non organisées (absence d'alignement régulier, de limites intercellulaires visibles...) Elles ne sont pas cohésives et présentent un aspect fusiforme, bien marqué pour certaines.

Chapitre 2 : Méthodologie

2.1 Enquêtes

2.1.1 Enquête au niveau des cabinets vétérinaires algériens canins

L'objectif de cette enquête était d'évaluer la demande des clients souhaitant détecter les chaleurs de leurs chiennes, se renseigner sur la méthode de détection employé par les vétérinaires en plus de situer l'utilisation du frottis vaginal comme moyen d'orientation sur les chaleurs.

2.1.1.1 Elaboration du questionnaire

Le questionnaire est court et de type questionnaire papier, Il est essentiellement composé de questions fermées. Le temps nécessaire pour le compléter est estimé à moins de deux minutes. (Fig. A1)

2.1.1.2 Collecte et analyse des données

Les données ont été collectées grâce à un entretien direct avec les vétérinaires, au sein de leurs cabinets situés dans la wilaya d'Alger, le remplissage du questionnaire a été assuré par le répondant lui-même.

Au total, 12 questionnaires ont été complétés entre le mois de février et le mois de mai 2019. Pour l'analyse des données le programme informatique Excel a été utilisé (Fig.A2). Cette enquête a révélé que près de la moitié des vétérinaires recevaient en consultations des propriétaires souhaitant détecter les chaleurs de leurs chiennes afin d'optimiser les chances de gestations. En effet, les vétérinaires employaient des techniques subjectives et que la majorité jugeaient comme étant fiables. Ayant déjà des notions sur le frottis vaginal dans la détection des chaleurs chez la chienne pour la plupart, la majorité d'entre eux souhaitaient l'introduire dans leurs cabinets comme examen complémentaire fiable.

2.1.2 Expertise de la gestion de la reproduction de la chienne par les propriétaires et/ ou éleveurs

Le but de cette seconde enquête, était de collecter le plus d'informations sur l'intérêt des propriétaires et des éleveurs vis-à-vis de la reproduction de leur chiennes, en plus d'obtenir des volontaires désirants participer à notre expérimentation.

2.1.2.1 Elaboration du questionnaire

Le questionnaire était destiné aux propriétaires et éleveurs de Chiennes, il a été réalisé à l'aide d'un éditeur de formulaire en ligne « Google Forms », et pouvait être complété depuis un ordinateur, une tablette ou un smartphone. Ce dernier est aussi court que le précédent, en

Chapitre 2 : Méthodologie

effet le temps nécessaire pour le compléter est estimé à moins de deux minutes, Il est composé de questions fermées à choix multiples, de sorte à minimiser le temps de réponse (Fig.A3).

2.1.2.2 Collecte et analyses des données

Les données ont été collectées après avoir partagé le formulaire via le réseau social Facebook sur un groupe destiné aux éleveurs et propriétaires canins basés en Algérie dénommé « Education canine en Algérie E.C.A ». Les résultats nous ont été parvenus par courriels, au total 42 questionnaires ont été complétés, entre le 23 janvier 2019 et le 26 janvier 2019. L'éditeur Google Forms a établi une analyse des données sous forme de graphiques récapitulatif (Fig.A4).

Cette enquête a révélé que énormément de propriétaires de chiennes désiraient faire reproduire leurs chiennes, en effet, plus de la moitié des chiens de l'échantillon étudié présentaient leurs chaleurs deux fois par an, ce qui rendait leur détection d'une importance majeure. Cependant la plupart ne reconnaissaient pas le moment propice pour l'accouplement et se basaient sur des critères subjectifs, de ce fait nous avons réussi à attirer leur attention sur l'intérêt du frottis vaginal dans la détection des chaleurs et obtenir des volontaires.

2.2 Présentation des zones d'études

Durant notre expérimentation, nous avons effectué des prélèvements vaginaux sur des chiennes au niveau du cabinet vétérinaire du Docteur Zeboudj Mouloud situé à Draria, ainsi qu'au domicile de certains propriétaires/éleveurs.

Les prélèvements ont été acheminés au laboratoire de physiologie de la reproduction au niveau de l'ENSV pour y être colorés avec le trichrome de Harris Shorr racourcie. De plus, certains prélèvements ont été colorés avec le monochrome de MGG modifié (Diff-quick ®) au niveau du laboratoire de reproduction canine de l'université de Saad Dahleb grâce au précieux aide du Docteur Reda Belala.

2.3 Choix de l'échantillon

Dans cette étude nous avons sélectionné 8 chiennes pubères de diverses races et à différents stades du cycle sexuel pour la réalisation de frottis vaginaux, en vue de distinguer les phases selon la coloration majoritaire et le typage cellulaire après visualisation au microscope, ainsi que le suivi d'une chienne husky sibérien et ce sur une période s'étalant du 18/02/2019 au 27/03/2019 pour mettre en évidence l'évolution de la cytologie vaginale. Chaque prélèvement cytologique était accompagné des informations suivantes : nom, prénom,

Chapitre 2 : Méthodologie

adresse, numéro de téléphone ou mail du propriétaire ainsi que le nom, race, robe, âge et numéro du dossier papier de l'animal suivi du code du frottis vaginal. Un total de 26 frottis a été collecté.

2.4 Méthode et matériel

2.4.1 Contention

En respectant les règles de sécurité « mise en place d'une muselière » une simple contention a été effectuée par le propriétaire de l'animal.

La queue était soulevée latéralement par l'une de nous, pendant que l'autre effectuait le prélèvement. De plus, pincer la croupe s'avérait parfois utile comme moyen d'immobilisation de la chienne, si la chienne était en rut.

2.4.2 Prélèvement

Le prélèvement s'effectuait à l'aide d'un écouvillon stérile en coton à usage unique, humidifié avec du sérum physiologique stérile (Fig.28 a et b) car l'humidification de l'écouvillon évite de prélever le mucus en plus des cellules, qui risque de gêner l'étalement. Il suffisait d'écarter les lèvres vulvaires avec le pouce et l'index (Fig.28 c) puis d'y introduire l'écouvillon au niveau de la commissure dorsale de la vulve puis orienté cranio-dorsalement en direction de la colonne vertébrale sur une distance de 10 cm (Fig.28 d et e) tout en exerçant une rotation avec une force suffisante, avant de l'extraire délicatement des voies génitales.

*Précautions :

Afin d'éviter le prélèvement des cellules de la fosse clitoridienne, nous avons veillé à diriger l'écouvillon caudalement, et prélever la partie dorsale du vagin pour éviter tout traumatisme du méat urinaire, en plus d'adapter l'écouvillon au gabarit de la chienne.



(a)



(b)

Chapitre 2 : Méthodologie

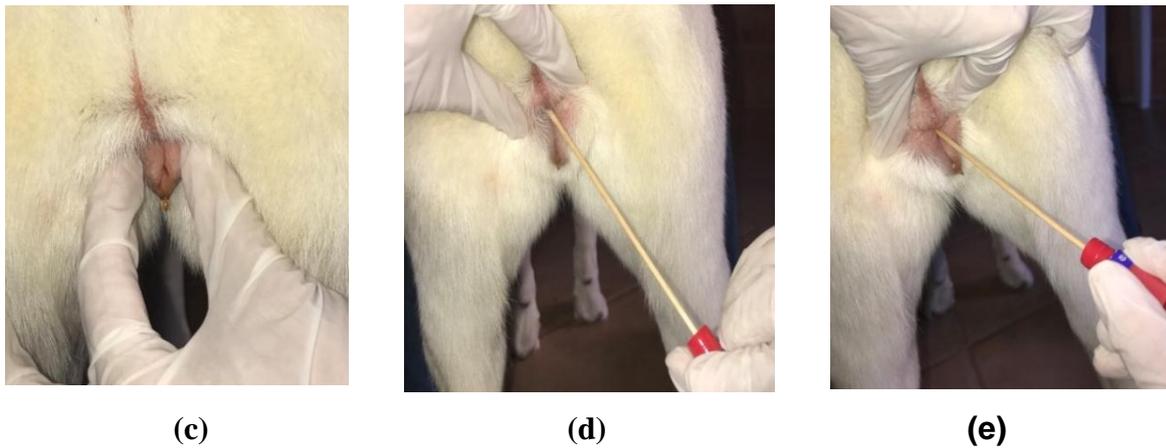


Figure 28 : Les différentes étapes du prélèvement vaginal
(Clichés personnels, 2019)

2.4.3 Etalement

L'écouvillon été ensuite roulé sur une lame propre sans frottement pour ne pas détériorer les cellules en effectuant deux à trois rangées parallèles bien séparées sur toute sa longueur (Fig. 29).

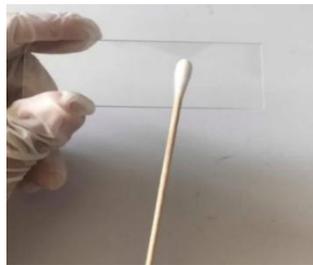


Figure 29 : L'étalement du prélèvement vaginal
(Cliché personnel, 2019)

2.4.4 Fixation

Les cellules été fixées rapidement par un cytofixateur en spray « KONIX Spray cyto- fixateur flacon de 100ml » avant de laisser sécher la lame une minute à l'air libre (Fig.30 a et b).



(a)



(b)

Chapitre 2 : Méthodologie

Figure 30 : Fixation du frottis vaginal
(Clichés personnels, 2019)

2.4.5 Conservation des lames

Pour plus de précision nous avons établis au moins deux frottis vaginaux par chienne, de ce fait les lames étaient conservées dans des boîtes de pétri préalablement étiquetées à l'abri de toutes contaminations extérieures, avant d'être acheminées au laboratoire le jour même pour leur coloration (Fig. 31).



Figure 31 : Conservation des lames
(Cliché personnel, 2019)

2.4.6 Coloration des lames

Le but des colorations était de différencier les cellules et de permettre de distinguer les différentes phases du cycle sexuel, deux types de colorations ont été utilisés : Une coloration polychrome de type Harris-Shorr technique raccourcie, (Kit Diag-Oestro ®) qui permet de mettre en évidence les affinités tinctoriales des cellules vaginales qui apparaissent oranges quand elles sont acidophiles, ou bien bleues, quand elles sont basophiles. Une coloration monochrome May Grunwald Giemsa modifié (Diff-quick ®), qui colore toutes les cellules en bleu, ainsi leur distinction repose sur des différences de tailles, de formes et la présence ou non d'un noyau.

2.4.6.1 Coloration de Harris-Shorr (version simplifié)

Pour réaliser cette coloration nous avons utilisé le KIT DIAG-OESTRO ®, qui comprend une boîte de 6 flacons de 100 ml, en effet la coloration par ce kit est une version rapide de la coloration de Harris-Shorr pour examiner les frottis de cellules vaginales chez la chienne (Fig. 32).

Chapitre 2 : Méthodologie



Figure 32 : KIT DIAG-OESTRO ® (Clichées personnels, 2019)

La lame été plongée successivement dans 6 bains différents (Fig. 33 a) comme décrit dans le tableau (3) et tamponnée avec soin dans du papier absorbant entre chaque bain pour limiter la migration d'un réactif dans le suivant (Fig.33 b) de plus l'eau distillé été renouvelée entre chaque étape de coloration (Fig. 33 c).

Tableau 3: protocole de coloration Harris-Shorr raccourci

Solutions	Nombres de trempages
Solution de rinçage n°1	5
Eau distillé	5
Hématoxyline	5
Eau distillé	5
Différenciateur	5
Solution de rinçage n°2	5
Colorant de Shorr	10
Solution de rinçage n°3	5

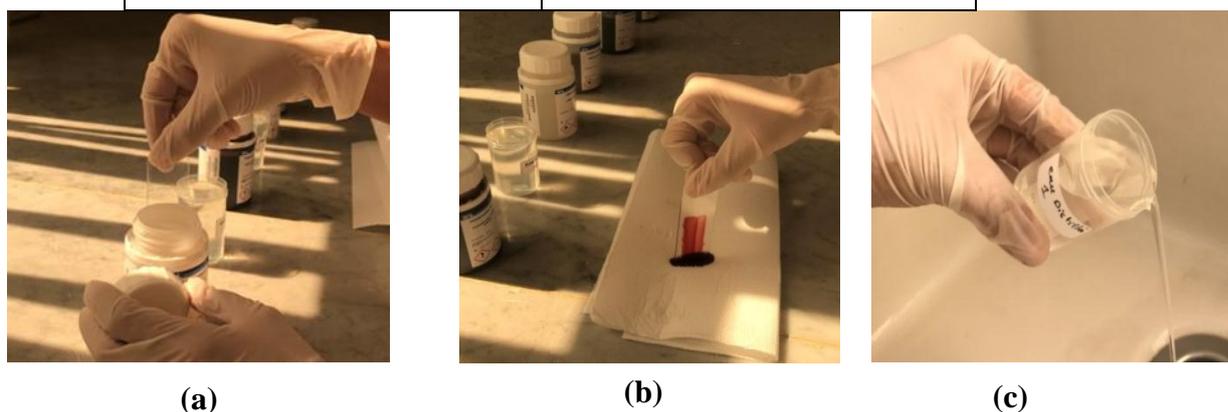


Figure 33 : Etapes de coloration de Harris-Shorr raccourcie (Clichées personnels, 2019)

Chapitre 2 : Méthodologie

2.4.6.2 Coloration de MGG modifié

Le kit diff-quick ® est composé de 3 flacons de solutions différentes, la coloration par ce kit se fait en moins d'une minute. Etant donné que le Methanol (Solution 1) représente une alternative au cytofixateur, la lame été plongée directement dans la solution 2 (Fig.34)

Tableau 4: protocole de coloration Diff-Quick

Solution	Trempages
Méthanol	5
Solution 1 Eosine Y	5
Solution 2 Colorant de thiazine	5

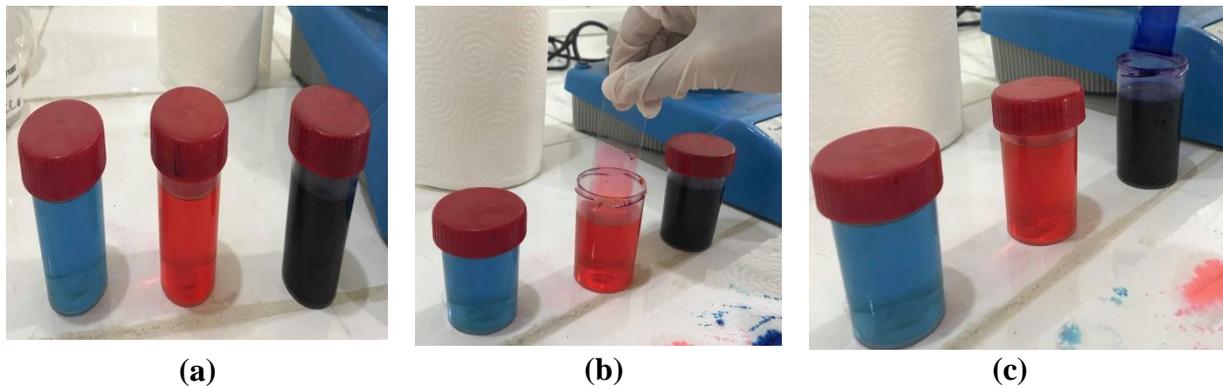


Figure 34 : Les différentes étapes de la coloration au Diff-quick ® (Clichés personnels, 2019)

2.4.7 Lecture au microscope

Les lames ont été visualisées à l'aide d'un microscope binoculaire dont le modèle était de Optika B-350® (Fig. 35), il était muni d'un oculaire d'un grossissement de 10.

Quatre objectifs étaient disponibles, d'un grandissement respectif de x4, x10, x40 et x100. Les grossissements indiqués par la suite représentent ceux du microscope.

Les frottis étaient d'abord visualisés au plus faible grossissement (x40) ce qui nous a permis d'apprécier globalement la richesse en cellules ainsi que leur répartition (dispersées, en amas ou isolées) et la réussite de la coloration. Cette première visualisation donne également la tendance tinctoriale du frottis (globalement basophile, acidophile, ou « mixte »). Nous avons effectué un typage cellulaire en nous basant sur un minimum de 50 cellules par champs, pour cela les lames étaient visualisées a un grossissement plus fort (x100), en plaçant

Chapitre 2 : Méthodologie

le champ du microscope sur des portions représentatives de l'ensemble de la lame et ce sur quatre champs différents.

Pour une meilleure lecture le grossissement du microscope était plus important (x400), nécessitant une immersion, dans certains cas, ainsi les informations étaient beaucoup plus précises sur les types cellulaires rencontrés. (La morphologie et la couleur de la cellule, la taille et l'aspect du noyau).

Une relecture n'a pas été effectuée car visualiser ces lames plusieurs semaines après la première lecture aurait pu fausser les résultats.



Figure 35 : Microscope binoculaire Optika B-350 (Cliché personnel, 2019)

Chapitre 3 : Résultats et discussion

3.1 Résultats

Chienne n°01 :



Figure 36 : Femelle Husky sibérien (Cliché personnel, 2019)

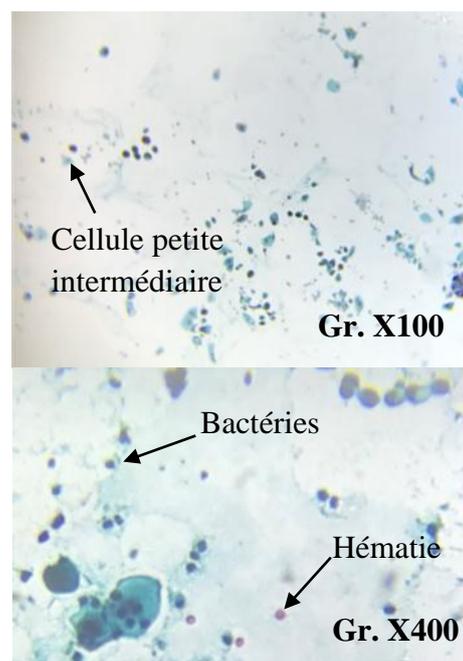
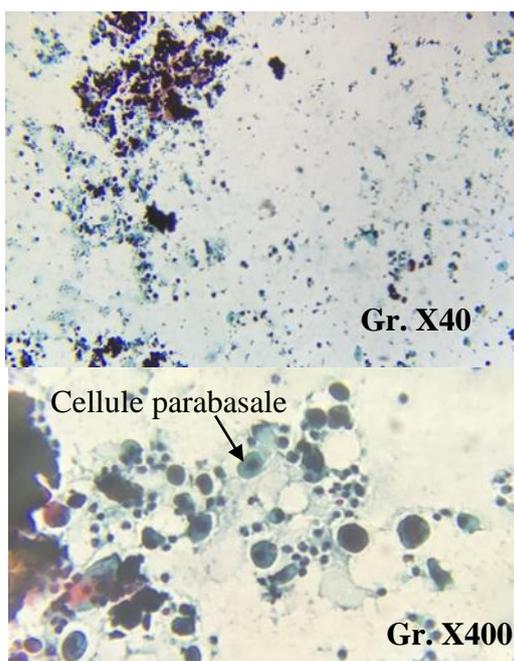
Il s'agit d'une chienne Husky sibérien (Fig. 36) de 1an et 2 mois de robe blanche pesant 18.5 KG, nommée Nephtys. Ayant eu ses premières chaleurs le 26/09/2018 soit 6 mois avant le premier prélèvement. Son premier frottis vaginale a été réalisé le 18/02/2019 et le dernier le 27/03/2019.

Les lames ont été codé et analysés voici les résultats :

J1 : Frottis 01A1

Commémoratifs : Ce

jour-là la chienne ne présentait aucun changements du comportement ni de modifications morphologiques de la vulve ou d'écoulements vaginale.



Chapitre 3 : Résultats et discussion

Figure 37 : Frottis vaginal d'un debut de proestrus coloré par le Kit Diag-Oestro ®

(clichés personnels, 2019)

Observation : Le fond du frottis était d'aspect sale a tendance basophile, il contenait de nombreuses petites et grandes cellules intermédiaires, ainsi que des cellules prabasales. Les neutrophiles et les bactéries ont aussi été visualisés.

Après comptage cellulaire on a retrouvé dans ce frottis : 62% de cellules parabasales, 21% de cellules intermédiaires, 11% de cellules polynucléaires neutrophiles, et 6% de cellules kératinisés. La chienne était en début de proestrus (Fig. 37).

J4 : Frottis 01B1

Comémoratifs : Selon la propriétaire la chienne aurait présenté un changement de comportement, elle chienne dormait plus, présentait un appétit augmenté, plus caline avec sa propriétaire et émettait des besoin de sortir. Aucunes modifications morphologiques ou d'écoulements vulvaires, n'étaient observées.

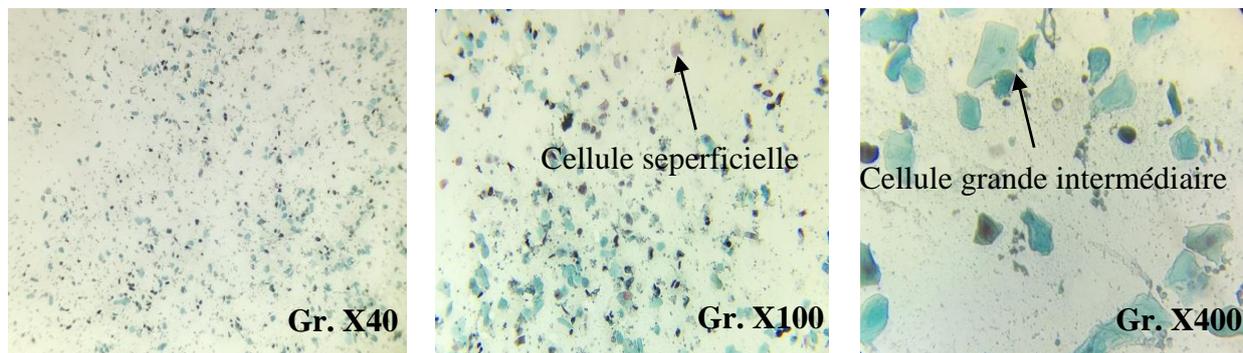


Figure 38 : Frottis vaginal de proestrus moyen coloré par le Diag-oestro ®
(Clichés personnels, 2019)

Observation: Le fond du frottis était d'aspect sale, à tendance acido-basophile, il contenait de nombreuses cellules grandes et petites intermédiaires, des cellules superficielles, ainsi que des hématies et quelques cellules parabasales. En effet les polynucléaires neutrophiles et les bactéries n'étaient pas visualisées.

Lors du comptage cellulaire, on a retrouvé 46,5% de cellules grandes intermédiaires , 42,5% de cellules superficielles et 11% de cellules parabasales.La chienne était en proestrus moyen (Fig. 38).

Chapitre 3 : Résultats et discussion

J7 : Frottis 01C1

Commémoratifs : Selon la propriétaire la chienne aurait présenté des écoulements vulvaires sanguinolents , peu abondant a partir du 22/02/2019 ce qui correspondait a 2 jours avant le prélèvement

Le jour du prélèvement nous avons observé un changement de comportement et une tuméfaction de la vulve en plus des écoulements (Fig. 39).



Figure 39 : Ecouvillon d'une fin de proestrus (Cliché personnel, 2019)

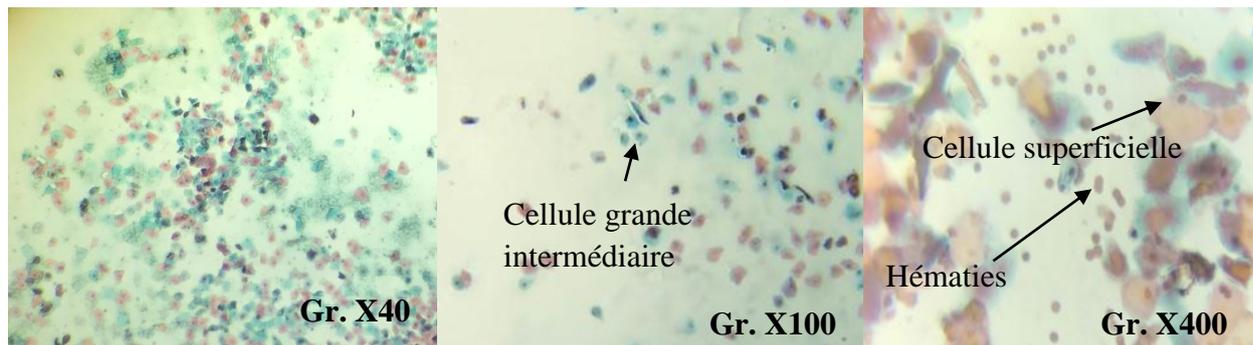


Figure 40 : Frottis vaginal de fin de proestrus (1) coloré par le Diag-Oestro ® (Clichés personnels, 2019)

Observation : Le fond du frottis était propre, à prédominance acidophile. Il contenait de nombreuses cellules superficielles avec et sans noyaux et d'érythrocytes en plus de quelques cellules grandes intermédiaires.

Lors du comptage , on a retrouvé 69% de cellules superficielles, 17% de cellules grandes intermédiaires ainsi que 14 % d'hématies. La chienne est en fin de proestrus (Fig. 40).

J9 : Frottis 01D1

Commémoratifs : la chienne présentait des saignements peu abondants.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

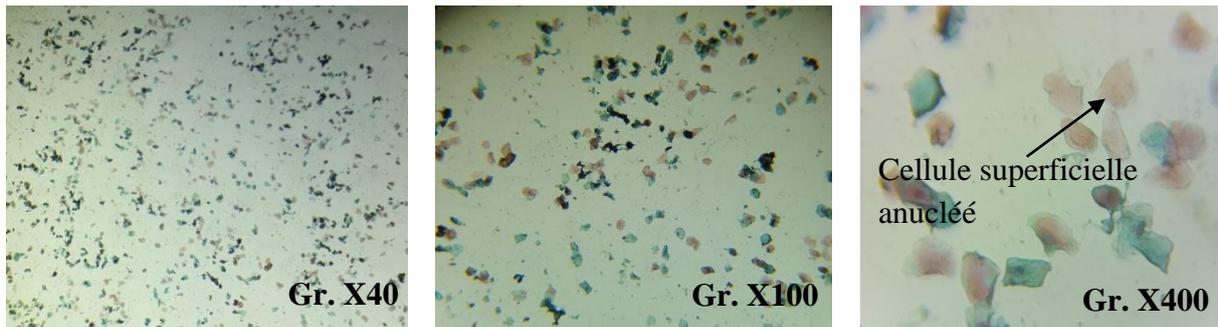


Figure 41 : Frottis vaginal de fin de proestrus (2) coloré par le Diag-Oestro ®
(Clichés personnels, 2019)

Observation :

Le fond du frottis était propre , on a remarqué une raréfaction des hématies et une exfoliation cellulaire plus importante .

Lors du comptage cellulaire on a noté 70.5% de cellules kératinisé ce qui correspondait toujours à la fin du proestrus (Fig. 41).

J11 : Frottis 01E1

Commémoratifs : La chienne présentait des écoulements vulvaire sanguinolents abondants.

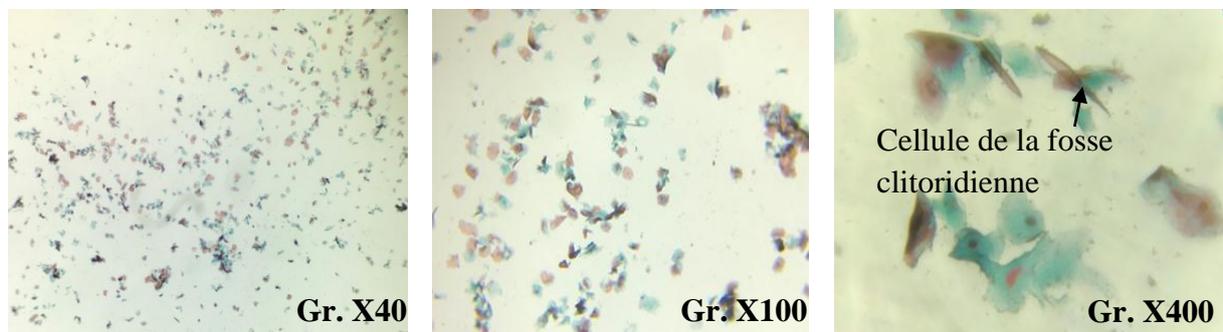


Figure 42 : Frottis vaginal de fin extreme de proestrus coloré par le Diag-Oestro ®
(Clichés personnels , 2019)

Observation : Après comptage cellulaire, on a noté 74% de cellules superficielles ce qui correspondait à une fin extrême de proestrus (Fig. 42).

J14 : Frottis 01F1

Commémoratifs : la chienne présentait des écoulements vulvaires sanguinolents.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

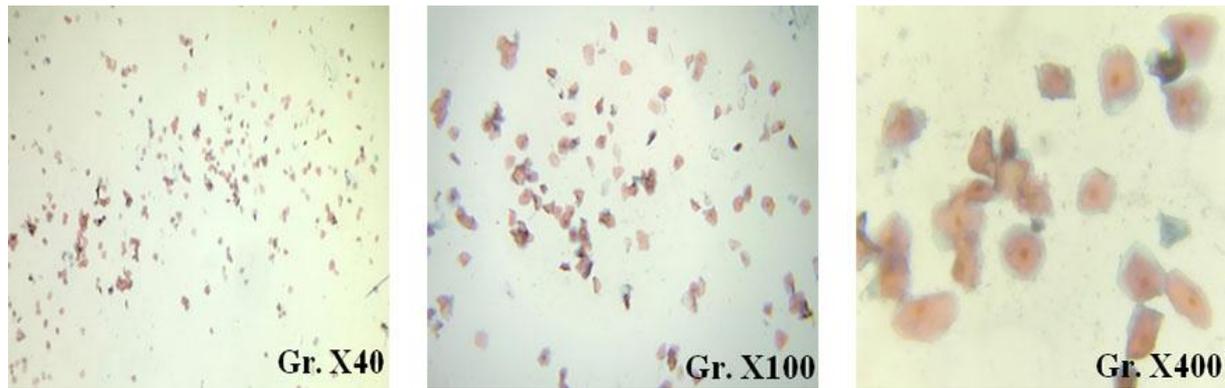


Figure 43 : Frottis vaginal d'un oestrus (1) coloré par le Diag-Oestro ®

(Clichés personnels , 2019)

Observation :Fond du frottis était claire, et acidophile. On a observé un prédominance de cellules superficielles et une absence d'hématies.

Après comptage cellulaire, on note 83,5% de cellules superficielles et squames anucléées. La chienne était en phase d'oestrus (Fig. 43).

J23 : Frottis 01G1

Commémoratifs : Selon la propriétaire les écoulements vulvaires sanguinolents s'était arrêté le 11/03/2019 selon la propriétaire.

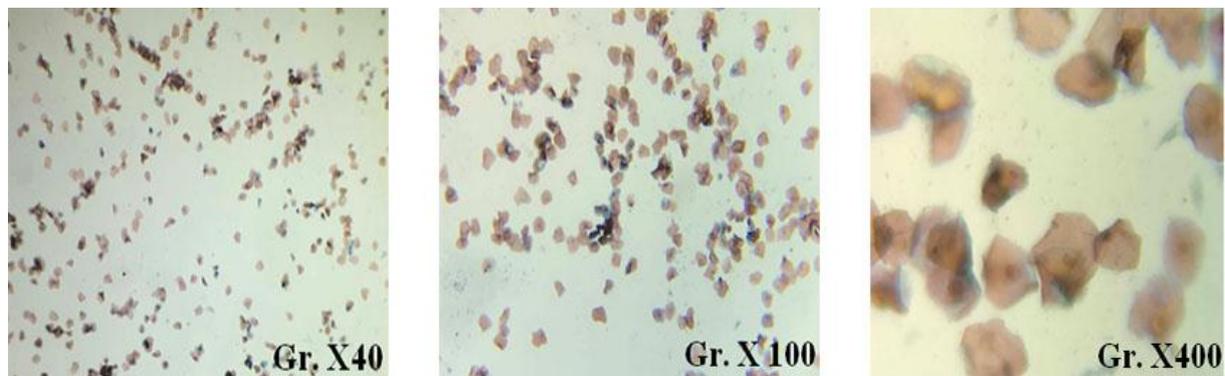


Figure 44 : Frottis vaginal d'un oestrus (2) coloré par le Diag-oestro ®

(clichés personnels , 2019)

Observation : Après comptage cellulaire on a noté une hausse des cellules superficielles, atteignant les 91,5% de la population cellulaire, ainsi l'ensemble des cellules étaient acidophile. La chienne était toujours en oestrus (Fig. 44).

Chapitre 3 : Résultats et discussion

J25 : 01H1

Commémoratifs : la chienne avait présenté des écoulements vulvaires de couleur marrons très foncée (Fig. 45).



Figure 45 : Ecouvillon d'un oestrus (Cliché personnel, 2019)

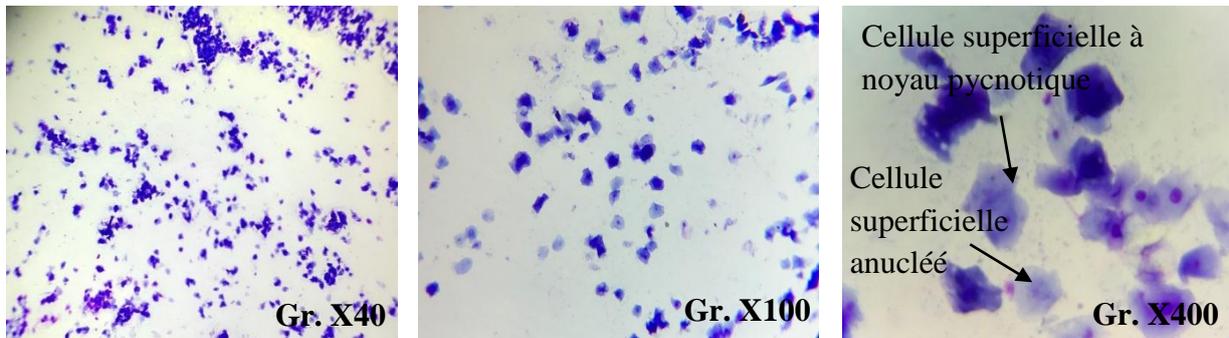


Figure 46 : Frottis vaginal d'un oestrus coloré par le Diff-Quick ®
(Clichés personnels , 2019)

Observation : En se basant sur la morphologie cellulaire , on a noté la présence d'amas de cellules superficielles a noyau pycnotique , ainsi que l'ascension des squames anucléés (Fig. 46).

J38 : 01I1

commémoratifs : Absence de saignements vuvlvaires (Fig. 47).



Figure 47 : Ecouvillon d'un dioestrus (Cliché personnel, 2019)

Chapitre 3 : Résultats et discussion



Figure 48 : Frottis vaginal d'un dioestrus (1) coloré au Diag-Oestro ®

(Clichés personnels, 2019)

Observation : Sur ce frottis on a observé, une diminution de cellules superficielles et une augmentation de cellules intermédiaires, ainsi que l'apparition de cellules métoestrales. Après comptage cellulaire, on note 54,5% de cellules intermédiaire et métoestrales, et 45,5% de cellules superficielles. La chienne était en phase de dioestrus (Fig. 48).

L'index éosinophile (IE) de chaque frottis a été calculé par la relation suivante :

$$IE = \frac{\text{Nombre de cellules acidophiles}}{\text{Nombre de cellules totales}}$$

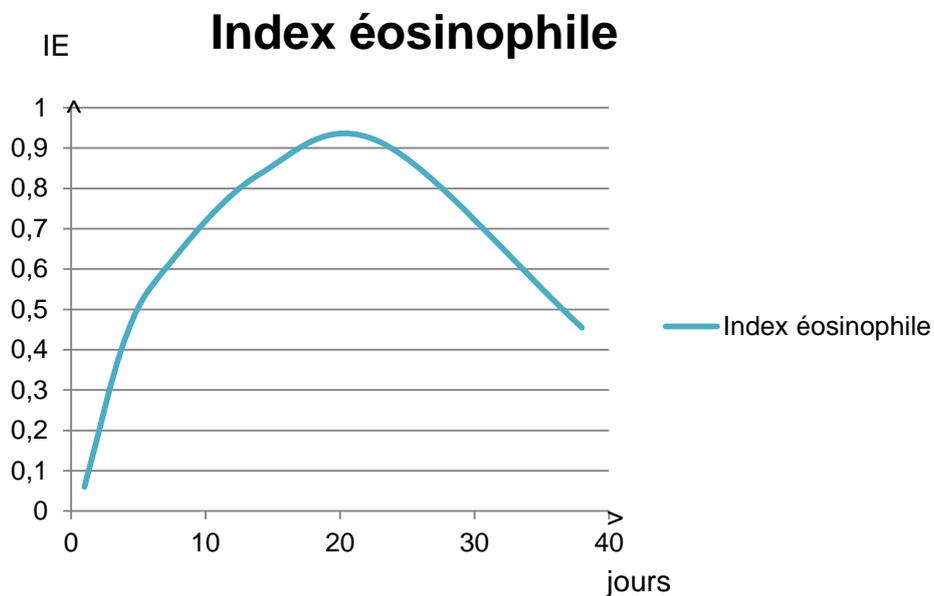


Figure 49 : Représentation du pic de l'index eosinophile de la chienne 01

(index eosinophile/jour)

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Chienne n°02 :

Il s'agit d'une chienne Bulldog Français âgée de 5 ans de robe blanche et noir, non stérilisée, nommée Iana. Le prélèvement a été effectué durant la fin de ses chaleurs d'après le propriétaire.

Commémoratifs : Nous avons constaté une vulve gonflée sans écoulements sanguinolents.

19/02/2019 : Frottis 02A1

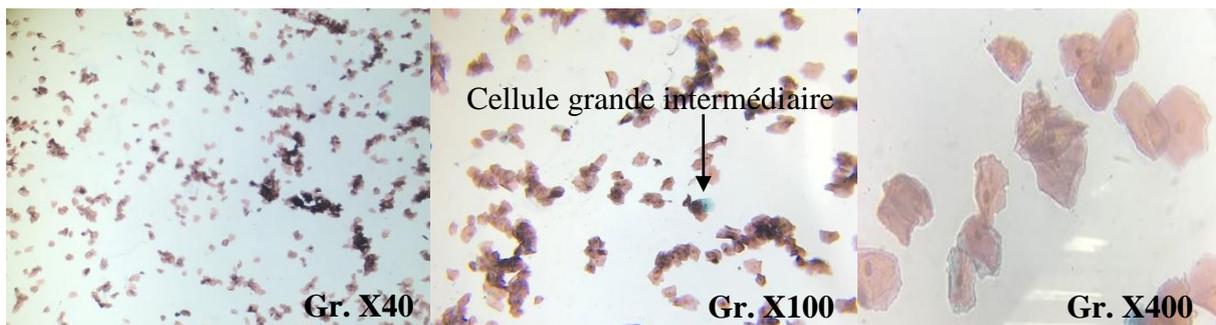


Figure 50 : Frottis vaginal d'un œstrus (3) coloré au Diag-Oestro ®
(Clichés personnels, 2019)

Observation :

Le fond du frottis était propre, et acidophile avec une importante concentration en cellules superficielles. Après comptage cellulaire, on a noté 99% de cellules superficielles et 1% de cellules grandes intermédiaires. La chienne était en phase d'œstrus (Fig. 50).

Chienne n°03 :

Il s'agit d'une chienne Pitbull, de robe fauve âgée de 7 ans, stérilisée depuis un an et demi, nommée Dora.

19/02/2019 : Frottis 03A1

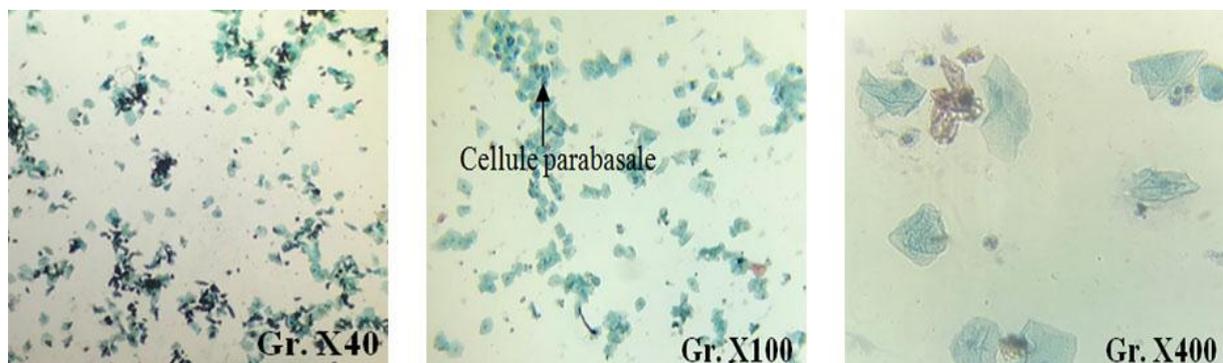


Figure 51 : Frottis vaginal d'un anoestrus de stérilisation coloré au Diag-Oestro ®

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Observation : ce frottis était pauci cellulaire, basophile et très peu marqué tinctoriellement riche en cellules parabasales et petites intermédiaire, on a remarqué aussi la présence de quelques polynucléaires neutrophiles et bactérie, ainsi que l'absence totale d'érythrocytes. Etant donné que la chienne était préalablement stérilisée ceci confirme sa position en anoestrus (Fig. 51).

14/03/2019 : Frottis 03B1

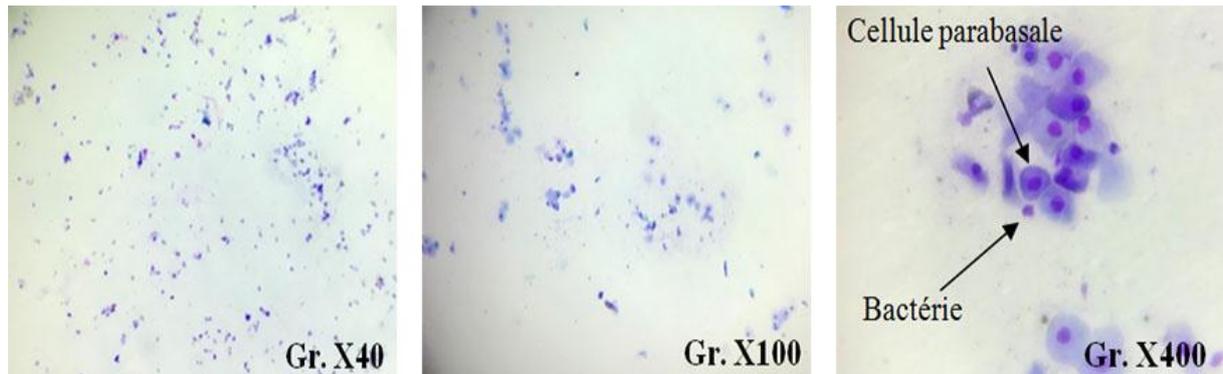


Figure 52 : Frottis vaginal d'un anoestrus coloré par le Diff-Quick ®

(Clichés personnels, 2019)

Observation : A la coloration au diff-quick , on a noté une population cellulaire caractéristique de l'anoestrus , en se basant sur la morphologie cellulaire plutôt que sur la tendance tinctoriale du frottis (Fig. 52).

Chienne 04 :

Il s'agit d'une chienne Golden-Retriver, de robe fauve agée de 6 mois nommée Daisy. Son frottis était malheureusement inexploitable.

Chienne n°05:

Il s'agit d'une chienne de race Beagle , de robe beige et blanc , agée de 4 ans, nommée Pitcho , ayant subit une césarienne 1 jours avant le prélèvement .

Chapitre 3 : Résultats et discussion

21/02/2019 : Frottis 05A1

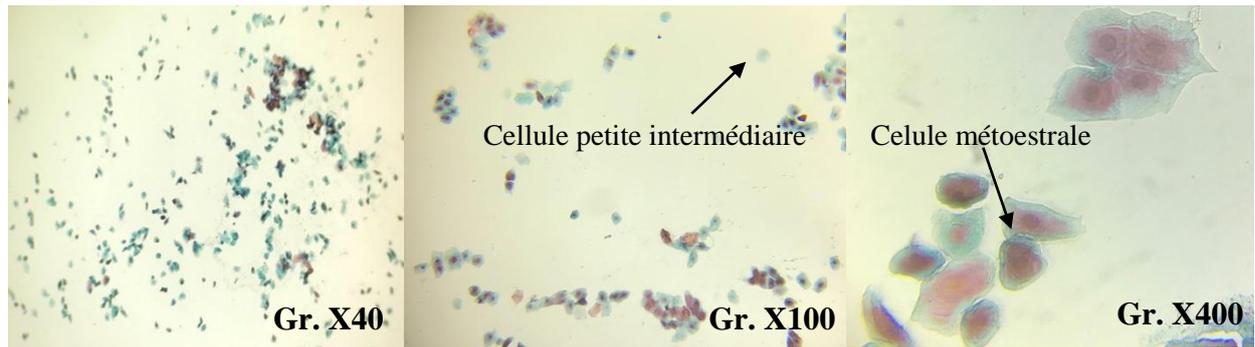


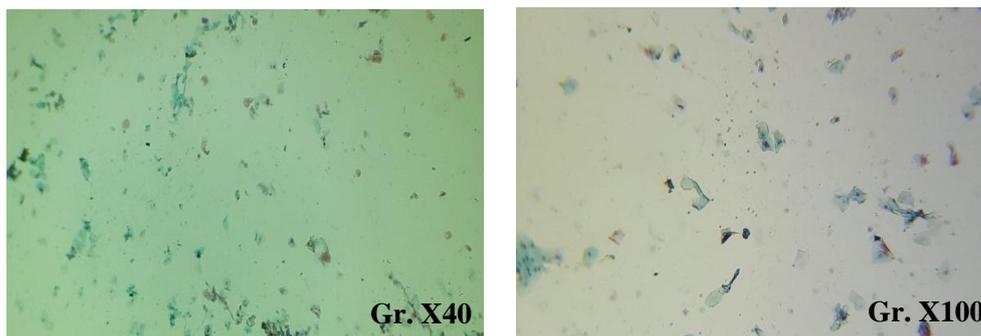
Figure 53 : Frottis vaginal d'un dioestrus(2) coloré par le Diag-Oestro ®
(Clichés personnels, 2019)

Observation : Le fond du frottis était propre à sale, à prédominance basophile, on a noté la présence de cellules petites et grandes intermédiaires, quelques cellules superficielles (15%), ainsi que des amas de cellules métoestrales. Elle était en phase de dioestrus, ceci confirme la phase physiologique de la chienne qui était gésante (Fig. 53).

Chienne n°06 :

Il s'agit d'une chienne berger allemand de robe marron et noir, âgée de 6 ans, nommée Lisa.
Commémoratif : venue en consultation pour un sarcome de sticker, le premier prélèvement a été réalisé avant l'intervention chirurgicale, tandis que le deuxième quelques semaines après l'intervention, et un accouplement.

26 /02/2019 : Frottis 06A1



Chapitre 3 : Résultats et discussion

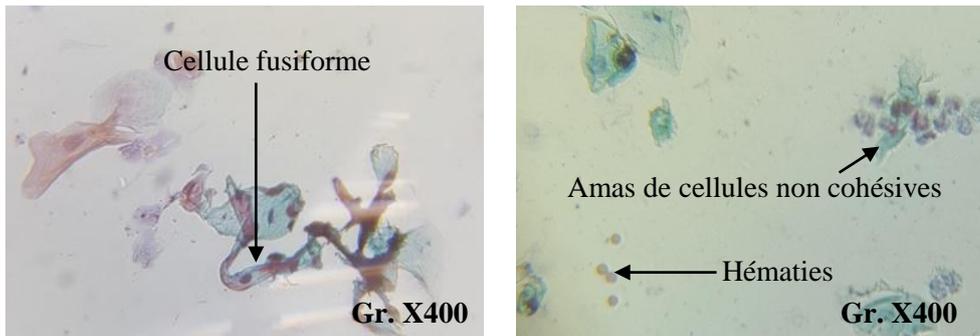


Figure 54 : Frottis vaginal d'une chienne atteinte d'un sarcome de Sticker coloré par le Diag-Oestro ® (Clichés personnels, 2019)

Observation : Le fond du frottis était sale, contenant des débris cellulaires et des hématies. La tendance tinctoriale est très peu marquée, la population cellulaire était polymorphe. On a remarqué des amas de cellules non cohésives ainsi que des cellules à bords irréguliers, certaines sont distendues, d'autres sont arrondies ou fusiformes, ces dernières ne représentaient pas les cellules communément observées dans les frottis vaginaux issus de chiennes saines (Fig. 54).

14/03/2019 : Frottis 06B1

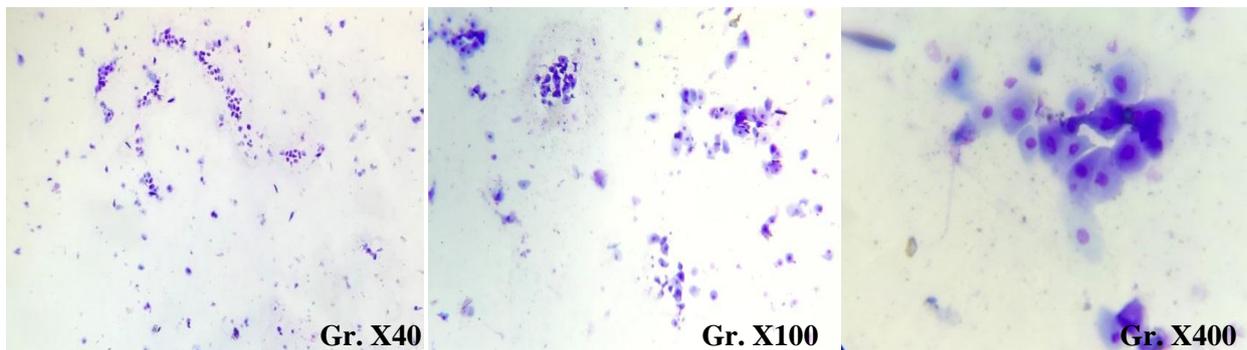


Figure 55 : Frottis vaginal d'un dioestrus coloré par le Diff-Quick ®

(Clichés personnels , 2019)

Observation : Disparition des cellules tumorales après traitement chirurgical de la chienne. La chienne était en dioestrus (Fig. 55).

Chienne n°07 :

Il s'agit d'une chienne Berger allemand de robe beige et noir , âgée de 2ans, nommée Inna. Commémoratifs : Ayant eu une seule portée il y'a un an, selon le propriétaire et après avoir eu recours à un dispositif mesurant la résistivité du mucus vaginal, la chienne aurait présentée des chaleurs mais pas de gestation après la saillie, et ce depuis la fin décembre.

26/02/2019 : Frottis 07A1

Chapitre 3 : Résultats et discussion

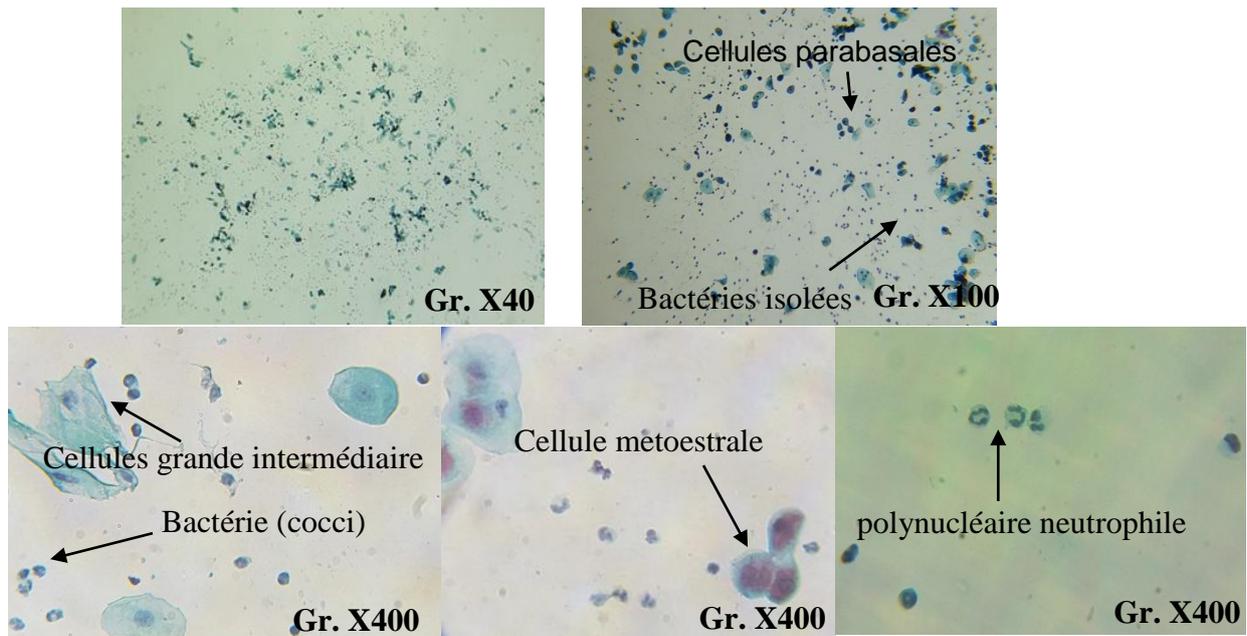


Figure 56 : Frottis vaginal d'une chienne atteinte d'une métrite coloré par le Diag-Oestro ® (Clichés personnels , 2019)

Observation : Le frottis était à tendance basophile, des cellules parabasales, petites et grandes intermédiaires ainsi que de nombreux polynucléaires neutrophiles étaient observées, mais ce qui nous a le plus interpellé, était la présence de bactéries (cocci) en grand nombre, et ce même en ayant établi plusieurs frottis différents le même jour sur cette chienne, en respectant les règles d'hygiène. Lors du comptage cellulaire on note : 66% de bactéries. L'échographie a révélé la une métrite (Fig. 56).

Chienne n°08 :

Il s'agit d'une chienne Berger belge malinois, de robe fauve, âgée de 1an et deux mois nommée Luna.

Commémoratifs : elle a eu ses premières chaleurs en décembre.

03/03/2019 : Frottis 08A1

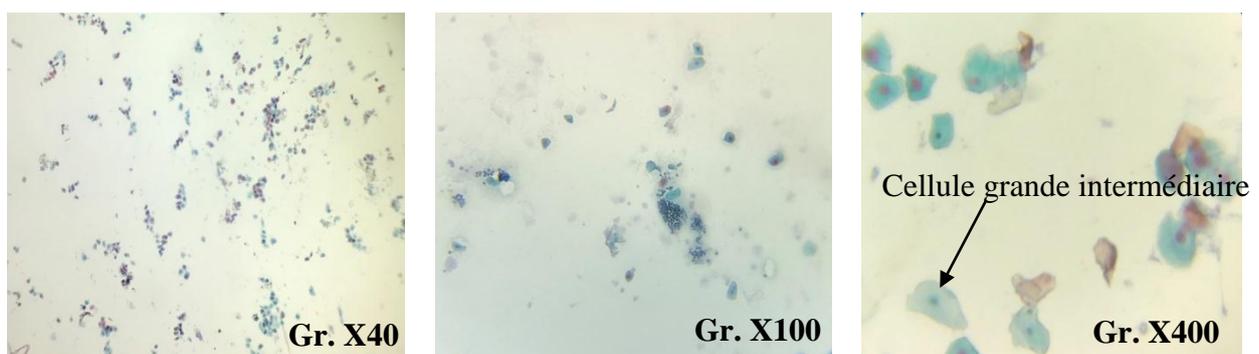


Figure 57 : Frottis vaginal d'un dioestrus (3) coloré par le Diag-Oestro ® (Clichés personnels , 2019)

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Observation :Le fond du frottis était propre à sale, à prédominance basophile, on a noté la présence de cellules petites et grandes intermédiaires, quelques cellules superficielles, ainsi que des amas de cellules métoestral. elle était en phase de dioestrus (Fig. 57).

3.2 Discussion

Dans notre étude, nous avons analysé des frottis vaginaux de chiennes en appliquant deux techniques de colorations. En observant l'évolution et les altérations de la cytologie vaginale de ces dernières, nous avons mis en évidence les nombreuses applications pratiques du frottis vaginales pour un vétérinaire canin praticien.

Tout d'abord , nous sommes parvenu à déterminer la phase du cycle oestral de chaque chienne après observation au microscope de leurs frottis.

FELDMAN et NELSON (2004), affirment que la disparition des neutrophiles, l'apparition des globules rouges et l'augmentation progressive du pourcentage de cellules superficielles, représentent la preuve d'une imprégnation oestrogénique continue sur la muqueuse vaginale atteignant plus de 60% à 80% des cellules au cours des derniers 1 à 6 jours de proestrus, jusqu'à aboutir à 80% à 100% des cellules du frottis et ce durant toute la période de l'oestrus. Ces études démontrent que le dioestrus est marqué par la diminution du nombre de cellules superficielles , tandis que le nombre de cellules intermédiaires et parabasales augmente avec présence de cellule métoestrale.

D'après JOHNSTON et al (2001), les cellules parabasales et les petites cellules intermédiaires sont les types de cellules prédominants présents sur les frottis vaginaux de chiennes anoestrus. Grace à ces variations cellulaires les indices éosinophiles ont été calculés lors du suivi de la chienne numéro 1 et le pic de ce dernier indiquerait le moment optimal pour la présentation au male.

SCHUTTE (1967) a constaté que plus de 90% des chiennes accouplées lorsque l'IE était maximal étaient gestantes par la suite.

Il faut savoir que les manifestations des chaleurs varient d'une chienne a une autre ce qui peut induire en erreur de nombreux vétérinaires, FONTBONNE (1996) affirme que le proestrus est annoncé par des écoulements vulvaires sero sanguinolents, Ceci dit ces signes n'apparaissent pas chez toutes les chiennes, certaines femelles ne présentent pas du tout

Chapitre 3 : Résultats et discussion

d'écoulements de sang tandis que d'autres n'en présentent pas dès le début des chaleurs : Prenons l'exemple de la chienne n°1 qui a présenté des écoulements vulvaires qu'à partir de la fin de son proestrus selon son frottis .

Durant notre expérimentation nous avons rencontré deux cas pathologiques, le premier était un cas de métrite asymptomatique dont nous avons pu établir le diagnostic par la présence d'un nombre accru de bactéries et de neutrophiles sur son frottis vaginal et ainsi résoudre son problème d'infertilité inexplicé, le deuxième cas présentait un Sarcome de Sticker dont on a observé l'évolution après traitement chirurgical.

D'après RIVIERE et *al.* (2017), les cellules de la muqueuse vaginale atteinte d'un sarcome de Sticker présentent des signes d'anisocytose, les cellules sont isolées ou rassemblées en paquets non organisées. Elles ne sont pas cohésives et présentent un aspect fusiforme, bien marqué pour certaines. De plus des cellules géantes et des cellules multi nucléées sont également observées.

Ainsi beaucoup de problèmes d'infertilité peuvent être corrigé simplement par l'interprétation du frottis vaginal chez la chienne.

Les difficultés que nous avons rencontrées sont liés à une disponibilité aléatoire des propriétaires, ce qui a constitué un obstacle dans le suivi du cycle oestral qui nécessite une certaine régularité des prélèvements sur une même chienne durant la période des chaleurs. En outre, l'observation de lames colorées par Harris Shorr 3 mois après leur coloration présentaient des couleurs très pâles et étaient quasi illisibles.

Parmi les avantages de notre étude est que nous disposions régulièrement d'échantillons grâce aux formulaires préalablement partagés. De plus, la réalisation du frottis vaginal est facile, rapide, peu onéreuse et ne nécessite pas beaucoup de matériel. Ainsi, le choix de la coloration de Harris Shorr se base principalement sur sa facilité de lecture de par son affinité tinctoriale qui offre une interprétation aisée et précise contrairement aux frottis colorés par le Diff-Quick ® (MGG) dont l'affinité tinctoriale ne peut être évaluée.

Conclusion

Les paramètres modifiés au cours du cycle de la chienne sont nombreux. Si le comportement reste pour beaucoup de vétérinaires et éleveurs le premier critère de détection des chaleurs, connaître le moment de la mise à la reproduction nécessite d'avoir recours à d'autres méthodes pour plus de précision. Au terme de cette étude effectuée sur 8 chiennes de races différentes, nous avons pu montrer que la méthode du frottis vaginal est très prometteuse. Grâce à la simplification et surtout le raccourcissement très net de la durée de coloration par le Kit Diag-Oestro[®], nous disposons d'une technique très rapide de détection des chaleurs, nous avons aussi pu mettre en évidence d'autres applications utiles du frottis vaginal, entre autre dans le diagnostic de certaines affections de l'appareil génital. Ainsi, cette étude devrait permettre aux futurs vétérinaires de mieux appréhender la reproduction des chiennes, de même une telle méthodologie valoriserait le travail du vétérinaire traitant, et entraînerait des économies financières non négligeables.

En perspective, on recommande d'établir des prélèvements vaginaux plus rapprochés pour mettre en évidence le pic de l'indice éosinophile, ainsi qu'un dosage de progestérone en phase d'œstrus pour déterminer le moment exact de l'ovulation et optimiser la réussite de la saillie ou l'accouplement.

De plus, il serait intéressant d'introduire la technique du frottis vaginal dans le cursus vétérinaire.



Détection des chaleurs chez la chienne

Dans le cadre de notre projet de fin d'étude en médecine vétérinaire à l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger, ayant pour sujet la détection des chaleurs chez la chienne, nous procédons à une enquête visant à déterminer l'impact du suivi des chaleurs de ces dernières, et comptons sur votre aimable collaboration en prenant le temps de renseigner ce présent questionnaire, tout en vous remerciant d'avance.

Question 1

Avez-vous en consultation des chiennes ?

Oui	Non
-----	-----

Question 2

Des propriétaires sont-ils désireux de les/la faire reproduire ?

Oui	Non
-----	-----

Question 3

Ces consultations sont-elles fréquentes ?

Oui	Non
-----	-----

Question 4

Comment détectez-vous les chaleurs de ces dernières ?

Question 5

Selon vous votre technique de détection des chaleurs chez la chienne est-elle fiable?

Oui	Non
-----	-----

Question 6

Connaissez-vous la technique du frottis vaginal dans la détection des chaleurs?

Oui	Non
-----	-----

Question 7

Seriez-vous intéressé de la proposer aux clients ?

Oui	Non
-----	-----

Figure A1 : Exemple du questionnaire destiné aux vétérinaires

Annexes

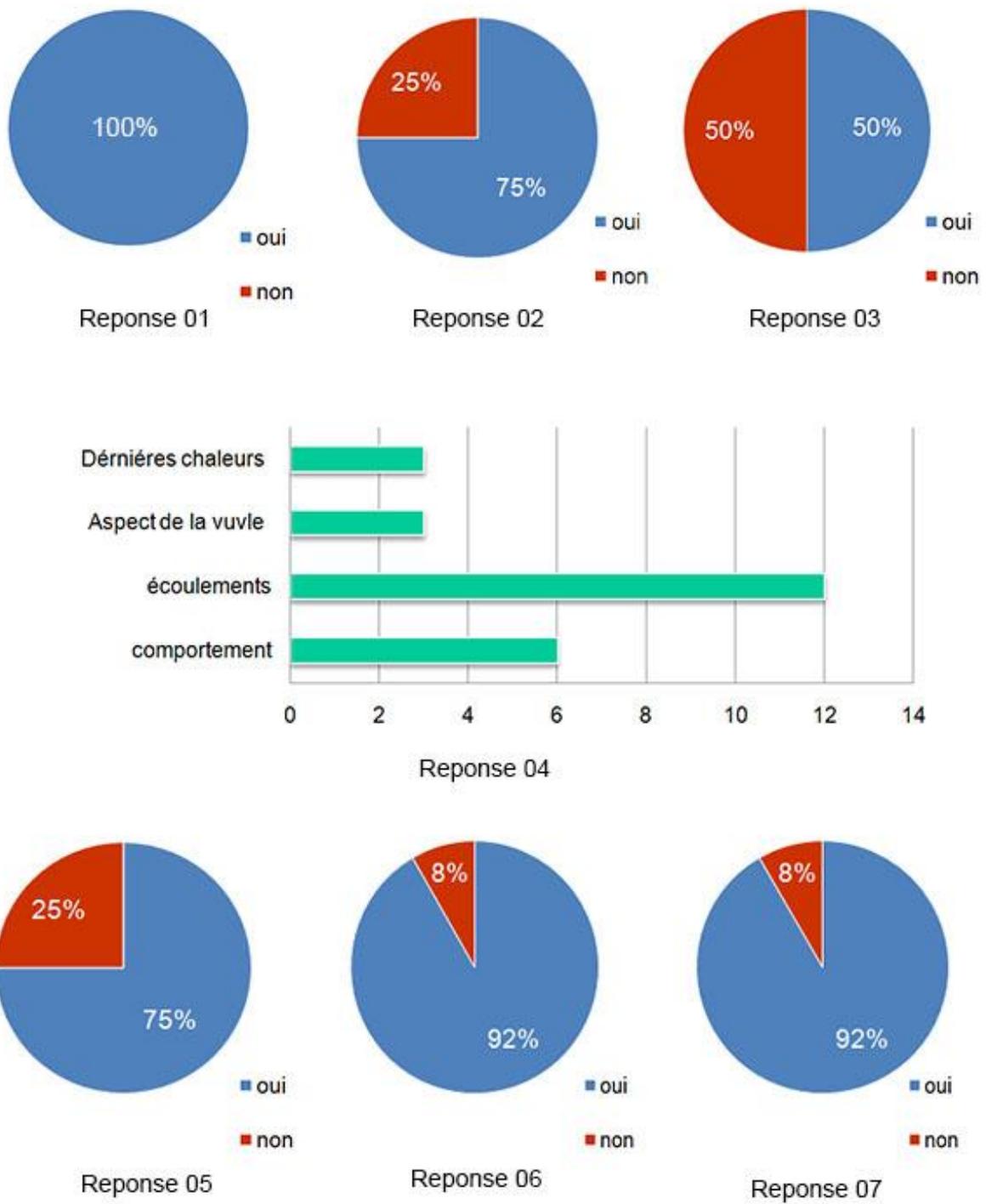


Figure A2 : réponses au questionnaire destiné aux vétérinaire

Gérer la reproduction de ma chienne

Dans le cadre de notre projet de fin d'étude En médecine vétérinaire à l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger ayant pour thème la détection des chaleurs chez la chienne. Un moyen simple, fiable et rapide a été mis en place pour les reconnaître et détecter d'éventuelles pathologies de la reproduction, nous vous invitons à répondre a ce questionnaire.

***Obligatoire**

Voulez-vous faire reproduire votre chienne ? *

Oui

Non

Comment les avez-vous reconnus ? *

Changement de comportement

Gonflement et écoulements vulvaires

Je ne la reconnais pas sans mon vétérinaire

Autre : _____

A quelle fréquence survient-elle ? *

1 fois par an

2 fois par an

3 fois par an

Reconnaissez-vous le moment idéal pour la présenter au mâle ? *

Oui

Non

L'avez-vous accouplé sans résultats ? *

Oui

Non

Autre : _____

Savez-vous qu'il est possible d'augmenter vos chances de réussite grâce au frottis vaginal ? *

Oui

Non

Etes-vous intéressés par un suivi gratuit des chaleurs de votre chienne, afin d'optimiser vos chances de réussite lors d'un accouplement ? *

Oui

Non

Si oui, je vous prie de bien vouloir laisser vos coordonnées ci-dessous :

Votre réponse _____

Contactez-nous

E-mail: neila.feret2019@gmail.com

Figure A3 : exemplaire du questionnaire destiné aux éleveurs/propriétaires

Annexes

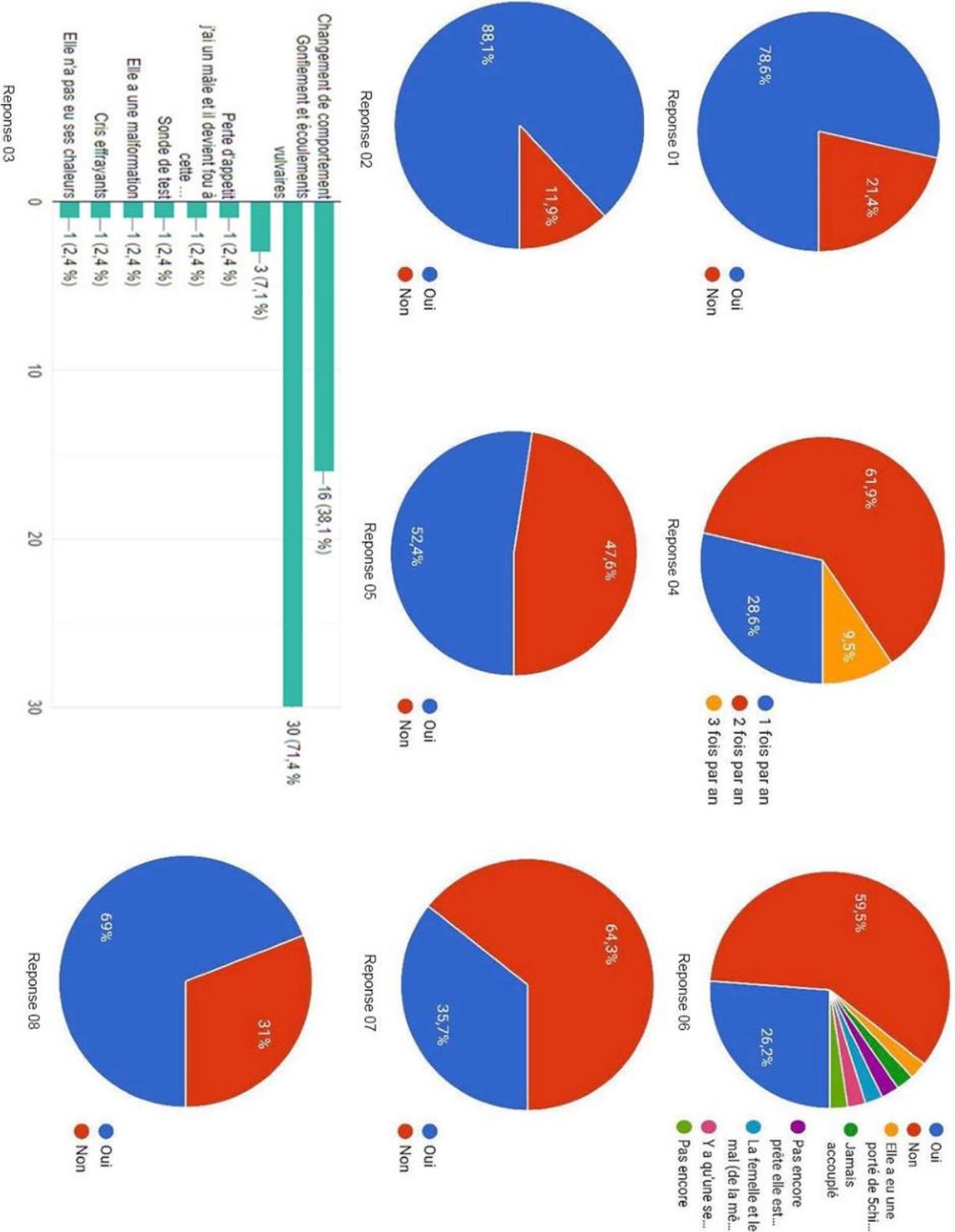


Figure A4 : Réponses au questionnaire destiné aux propriétaires/éleveurs

Références bibliographie

1. ANDERSON, A.C., SIMPSON, M.E., 1973. The genital system during maturity and sesescence. *In: the ovary and Reproductive Cycle of dog (beagle)*, 2^{ème} Ed. Geron-X Inc, Los Altos, pp. 195-201.
2. ARTHUR, G.H., NOAKES, D.E., PEARSON, H., et al., 1996. Infertility in the bitch. Ed. W.B. Saunders, Philadelphia, USA, pp. 516-543.
3. BARONE, R., 1990. Appareil génital femelle. *In: Anatomie comparée des mammifères domestiques. Appareil uro-génital, foetus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale.* 4^{ème} Ed. Vigot, pp. 250–417.
4. BLAZER, A., LOTH, A., 2012. Guide de reproduction du chien et de la chienne : de la saillie à la vente des chiots. Med'com, France, 96 p.
5. BLENDINGER, K., 2007. Physiology and pathology of the estrous cycle of the bitch, 56^o Congresso Internazionale Multisala, Rimini, Italy, pp. 73-77.
6. BOURGOIS, A.M.E., 2009. Le pyometre de la chienne : une urgence médicale. Thèse pour le doctorat vétérinaire à l'école nationale supérieure d'Alfort, 89 p.
7. BOUSQUET-MELOU, A., 2006. Antibiothérapie des infections utérines. Enseignement de Second Cycle, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, publié par RENAUD, B., dans <https://slideplayer.fr/>(consulté le 08/03/2019).
8. CHASTANT, S., RONSIN, P., 2016. Poster kit-diag-oestro RAL (coloration de HARRIS SHORR). <https://www.ral-diagnostics.fr/ressources/> (consulté le 08/02/2019).
9. CHASTANT-MAILLARD, S., SAINT-DIZIER, M., REYNAUD, K., 2014. Particularités de la reproduction de la chienne. *In : La Reproduction animale et humaine.* Quae, France, pp. 609-621.
10. CHRISTENSEN, GC., EVANS, HE., 1993. MILLER ME. *Anatomy of the dog*, W.B Saunders Company, Philadelphia, pp. 537-546.
11. CHRISTIE, D.W., BAILEY, J.B., BELL, E.T., 1972. Classification of Cell Types in Vaginal Smears During the Canine Oestrous Cycle. *British Veterinary Journal*, volume 128, issue 6, pp. 301-310.
12. CONCANNON, P. W., 2011. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science.* Elsevier 124, 200–210.
13. CONCANNON, P., DIGREGORIO, G.B., 1986. Canine vaginal cytology. *In: Small animal reproduction and infertility*, pp. 96-111.
14. CONCANNON, P.W., MCCANN, J.P., TEMPLE, M., 1989. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *Journal of reproduction and fertility* 39, 3-25.

Références bibliographie

15. CORNELOUN, D., 2011. étude expérimentale du suivi des chaleurs chez la chienne : la détection du jour d'ovulation par dosage semi-quantitatif de LH. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire, à l'université Claude-Bernard-Lyon1, 132 p.
16. CORRE, J., ROZENBAUM, M., 2004. Élaboration d'un document pédagogique de reproduction canine. Thèse pour le doctorat vétérinaire, à l'école nationale supérieure d'Alfort, 258 p.
17. DE GIER, J., KOOISTRA, H.S., DJADJADININGRAT-LAANEN, S.C., 2006. Temporal relations between plasma concentrations of LH, FSH, Oestradiol 17B, progesterone, prolactin and a melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory and early phase in the bitch. *Theriogenology*, 66, pp. 1346-1359.
18. DUMON, C., 1992. Insémination en semence fraîche chez la chienne. *In* : Les Indispensables reproduction, Ed. Paris, pp. 243-250.
19. DUTEY, A.M., 2015. La coloration des frottis vaginaux chez la chienne : étude de l'efficacité d'un nouveau protocole de Harris-Shorr simplifié. Thèse pour le doctorat vétérinaire, à l'école nationale vétérinaire supérieure d'Alfort, 118p.
20. ENGLAND, G., YEAGER, CONCANNON, P.W., 2003. Ultrasound imaging of the reproductive tract in the bitch. *In*: Recent advances in small animal reproduction. International Veterinary Service(www.ivis.org) , Ithaca, New York
21. EVANS, H.E., DE LAHUNTA, A., 2013. Miller's anatomy of the dog, 4th Ed. Saunders Elsevier, St. Louis , Missouri, USA, 850p.
22. EVANS, J.M., WHITE, K., 2002. Anatomy and physiology. *In*: The Book of the Bitch: a complete Guide to understanding and caring for bitches, new edition. Ringpress, Singapore, pp. 125-133.
23. FELDMAN, E.C., NELSON, R.W., 2004. Ovarian cycle and vaginal cytology. *In*: Canine and feline endocrinology and reproduction, third edition. Elsevier science, USA, pp. 752-774.
24. FONTBONE, A., 1996. Faire reproduire son chien ou sa chienne : les clefs d'une pratique réussie. Maradi MARTISSERRE, France, 304 p.
25. FONTBONE, A., 1996. Faire reproduire son chien ou sa chienne. *In* : les clefs d'une pratique réussie. Maradi MARTISSERRE, France, 304 p.
26. FONTBONNE, A., 2008. In vivo ovulation, oocyte maturation and fertilisation in the bitch. Thèse de doctorat de l'institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, 116 p.

Références bibliographie

27. FONTBONNE, A., GRELLET, A., FONTAINE, E., 2011. Passion et élevage des chiens : faire reproduire son chien, Les clés d'une pratique réussie. Champlibre, France, 201 p.
28. FONTBONNE, A., MALANDAIN, E., 2006 Ovarian ultrasonography and follow-up of estrus in the bitch and queen, *Wathram Focus*, vol 16, n°2.
29. HEAPE, W., 1900. The sexual season of mammals and the relationship of "pro-estrus" to menstruation. Part I. *In: Q. J. Microbiol. Sci*, pp.1-70.
30. JOHNSTON, D.S., ROOT-KUSTRITZ, M.V., OLSON, N.S., 2001. Canine and Feline Theriogenology, First edition. W.B SAUNDERS COMPANY, Pennsylvania, 592p.
31. LA CHIENNE BERGER ALLEMAND. Thèse de Doctorat Vétérinaire, La Faculte De Medecine De Creteil, 83p.
32. Laboratoires Synlab veterinary Belgium. Hormones sexuelles chien chat, 2017. www.synlab.be/(consulté le 19/03/2019).
33. LÉVY, X., FONTBONNE, A., 2007. Determining the optimal time of mating. *In: bitches: particularities*, *Rev Bras Reprod Anim*, Vol. 31, pp. 128-134.
34. LEVY, X., MIMOUNI, P., 2018. *Le cycle sexuel de la chienne. Sur le site du Centre de Reproduction des Carnivores du Sud-ouest (CRECS)*. <https://www.centrale-canine.fr/articles/le-cycle-sexuel-de-la-chienne/>(consulté le 17/03/2019).
35. LUC, A., 2005. Intérêt de l'interprétation des frottis vaginaux chez la chienne en début de proestrus lors du suivi de chaleurs: Etude expérimentale. Thèse pour le doctorat vétérinaire, à l'école nationale supérieur d'Alfort, 163 p.
36. MIALOT, J.P., BEGON, D., GUERIN, C., 1984. Pathologie de la reproduction chez les carnivores domestiques. Première édition. Point vétérinaire, France. 192 p.
37. MOXON, R., COPLEY, D., ENGLAND, G.C.W., 2010. Quality assurance of canine vaginal cytology: A preliminary study. Elsevier science, USA, pp. 479-485.
38. NEVEUX, M., 1999. Les frottis vaginaux chez la chienne. *Point Vet*, pp. 557-564.
39. OLSON, P.N., BOWEN, RA., BEHRENDT, M.D., OLSON, JD., NETT, T.M., 1984. Concentrations of testosterone in canine serum during late anestrus, proestrus, estrus, and early diestrus. *Am. J. Vet. Res.*, 45 (1), pp. 145-148.
40. PETERSON, M.E., 2010. The Canine and Feline Reproductive Endocrinology in top Endocrine Publications of 2010. <https://endocrinevet.blogspot.com/> (consulté le 18/07/2019).

Références bibliographie

41. REIMERS, T.J., PHEMISTER, R.D., NISWENDER, G.D., 1978. Radioimmunological measurement of follicle stimulating hormone and prolactin in the dog. *In: biology of reproduction*, volume 19, issue 3, pp. 673- 679.
42. REYNAUD, K., FONTBONNE, A., MARSELOO, N., VIARIS DE LESEGNO, C., THOUMIRE, S., CHASTANT-MAILLARD, S., 2005. Maturation ovocytaire, fécondation et développement embryonnaire chez la chienne, académie vétérinaire de France, pp. 167-170.
43. RIVIERE, D., CRETON, A., TRUMEL, C., 2017. cytologie-hématologie du chien et du chat recueil de cas cliniques. Med'com, France. 394 p.
44. ROBINSON, B., NOAKES, D.E., 2019. Vaginal smear, in *Veterinary Reproduction and Obstetrics* (Tenth Edition). <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/vagina-cytology/>(consulté le 18/07/2019).
45. SCHAEFERS-OKKENS, A.C., KOOISTRA, H.S., 2010. *Clinical endocrinology of dogs and cats*. Schlutersche, Germany, 237 p.
46. SCHUTTE, A.P., 1967. Canine vaginal cytology –I Technique and cytological morphology. *J.small Anim. Pract*, 8, pp. 301-306.
47. SOKOLOWSKI, JH., 1977. Reproductive patterns in the bitch .*Vet Clin North*
48. STOCK, A., 2015. THÉRIOGÉNOLOGIE: les vaginites chez la chienne. Sur le site du centre vétérinaire DMV. <https://www.centredmv.com/> (consulté le 29/07/2019).
49. STORZ, K., 2019. Endoscope vétérinaire pour insémination artificielle et hystérocopie. Sur le site du Karl Storz and Co. <https://www.karlstorz.com> ou https://www.karlstorz.com/cps/rde/xbcr/karlstorz_assets/ASSETS/2165590.pdf (consulté le 10/06/2019)
50. THOMASSEN, R., FARSTAD, W., 2009. Artificial insemination in canids : a useful tool in breeding and conservation, *Theriogenology*, Vol. 71, n° 1, pp. 190-199.
51. WRIGHT, PJ., 1990. Application of vaginal cytology and plasma progesterone determinations to the management of reproduction in the bitch.*J Small. ANim. Pact.*, 31, pp. 335-340.

Netographie

[1] Laboratoires Synlab veterinary Belgium. Hormones sexuelles chien chat, 2017.
www.synlab.be/(consulté le 19/03/2019).

[2] www.draminski.com (consulté le 15/04/2019).

Résumé : Afin d'étudier l'intérêt du frottis vaginal chez la chienne, nous avons effectué plusieurs frottis vaginaux sur des chiennes au niveau d'un cabinet vétérinaire ainsi qu'au domicile de certains propriétaires/éleveurs dans la région d'Alger, ces derniers ont été coloré avec le trichrome de Harris Shorr raccourcie et le monochrome de May Grunwald Giemsa modifié, sur une période allant de Février 2019 à Mars 2019 et ce sur 8 chiennes de races différentes à des stades du cycle différent. Un total de 26 frottis vaginaux a été collecté. En observant l'évolution et les altérations de la cytologie vaginale de ces dernières, nous avons mis en exergue les nombreuses applications pratiques du frottis vaginales pour un vétérinaire canin praticien dont : la détection des chaleurs en calculant l'index éosinophile et le diagnostic de certaines pathologies de l'appareil reproducteur femelle, afin d'optimiser les chances de gestation avant la saillie.

Mots clés : Chienne, frottis vaginaux, coloration, intérêt, détection des chaleurs.

Abstract : In order to study the vaginal smear among the bitch , we carried out several vaginal smears from bitches into a veterinary clinic and at breeder's and owner's home of Algiers, these vaginal smears were stained by using the shortcut version of Harris's Shorr trichrome, and the monochrome of May Grunwald Giemsa modified, from February 2019 to march 2019, on 8 bitches of different breeds at different phases of the estrous cycle. A total of 26 vaginal smears were collected. Microscopic evaluation of the types of cells present in vaginal smears allowed us to highlight many useful applications of the vaginal smear for a canine veterinarian, which are: detecting estrus by evaluate eosinophilic index and the diagnostic of some female reproductive tract diseases, in order to increase their chances on a pregnancy before mating.

Key words: Bitch, vaginal smears, staining, interest, heat's detection.

ملخص: من أجل دراسة أهمية المسحة المهبلية عند الكلبة, قمنا بالعديد من المسحات المهبلية لدى كليات على مستوى عيادات بيطرية و كذلك في منازل بعض أصحاب الكلاب و الرعاع في ولاية الجزائر, تم صبغ المسحات باستخدام أصبغة هاريس-شورر المختصرة و صبغة ماي جرنولد جيمسا المغيرة, خلال فترة ممتدة من فيفري 2019 إلى مارس 2019 على 8 كليات من مختلف الأصل أثناء مختلف فترات الدورة. بالإجمال تم الحصول على 26 مسحة. بملاحظة تحولات و تغيرات فحصات الخلايا المهبلية تمكنا بإبراز عدّة تطبيقات عملية للمسحة المهبلية لدى بيطري كلبى كإكتشاف الحرارة بحساب مؤشر اليوزين و تشخيص بعض الأمراض للجهاز التناسلي الأنثوي, من أجل تحقيق فرص الحمل قبل التزاوج.

كلمات البحث: الكلبة, مسحة مهبلية, صبغ, أهمية, إكتشاف الحرارة.