



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Ibn Khaldoun–Tiaret**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Mémoire de fin d'études**

**En vue de l'obtention du diplôme de Master académique**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : sciences biologiques**

**Spécialité : biologie moléculaire et cellulaire**

**Présenté par :**

**KACEM. Khaldia & KOBOUCH. Rabia**

**Thème**

# **Etude de l'épithélium vaginal chez les petits ruminants**

**Soutenu publiquement le 04 / 07 / 2019**

<b>Jury:</b>	<b>Grade</b>
<b>Président: TADJ. A</b>	<b>MAA</b>
<b>Encadreur: ACHIR. M</b>	<b>MCB</b>
<b>Examineur 1: HEMIDA. H</b>	<b>MCA</b>

**Année universitaire 2018-2019**

## Résumé

La cytologie vaginale est un moyen économique fiable et facile pour suivre le cycle sexuel chez les petits ruminants, la présente étude a pour but d'analyser les variations de la cytologie vaginale chez les petits ruminants suivant des stades physiologiques différents.

L'examen microscopique des frottis cytologiques de l'épithélium vaginal réalisés chez les espèces ovines et caprines, colorés par les colorations *RAL 555* et *MGG* ont permis la caractérisation de la structure cellulaire de l'épithélium vaginal.

Les résultats de l'observation microscopique ont révélé qu'au cours des différents stades physiologiques, l'épithélium vaginal chez les espèces étudiées subit de grandes variations et les formes cellulaires changent remarquablement pour tous les frottis réalisés avec une prédominance du type parabasale. L'observation a aussi permis de déceler la présence de cellules superficielles, intermédiaires et les polynucléaires.

Ce travail est une contribution pour l'enrichissement des connaissances sur le comportement de l'épithélium vaginal suivant l'état physiologique chez les petits ruminants.

**Mots-clés :** Petit ruminant, épithélium vaginal, frottis, coloration

## Abstract

Vaginal cytology is a reliable and easy economic way to examine the sexual cycle in small ruminants, the purpose of this study is to analyze variations in vaginal cytology in small ruminants at different physiological stages.

Microscopic examination of cytological smears of the vaginal epithelium made in sheep and goats, stained with *RAL 555* and *MGG* stains, allowed the characterization of the cellular structure of the vaginal epithelium.

Hence, the results of the microscopic observation revealed that during the different physiological stages, the vaginal epithelium in the studied species undergoes great variations and the cellular forms change remarkably for all smears carried out with a dominance of the parabasal type. Thus, this investigation also allowed detecting the presence of superficial cells, intermediate, and polynuclear.

**Keywords :** small ruminants, vaginal epithelium, smears, stains.

## المخلص

علم الخلايا المهبلية هو وسيلة اقتصادية موثوقة و سهلة لمراقبة الدورة الجنسية عند المجترات الصغيرة. الهدف من هذه الدراسة هو تحليل الاختلافات في علم الخلايا المهبلية عند المجترات الصغيرة خلال مختلف المراحل الفيزيولوجية.

الفحص المجهرى للعينات الخلوية للنسيج الظاهري المهبلى للأغنام والماعز الملونة بالملون المسمى *MGG* و *RAL 555* والتي سمحت بوصف التركيب الخلوي للنسيج الظاهري . كشفت نتائج الملاحظة المجهرية انه خلال مختلف المراحل الفيزيولوجية ان النسيج الظاهري المهبلى في العينات المدروسة تخضع لتغيرات كبيرة والأشكال الخلوية تتغير بشكل ملحوظ بالنسبة لجميع العينات التي تم تحضيرها مع هيمنة الخلايا للقاعدية كما سمحت الملاحظة أيضا باكتشاف وجود خلايا سطحية ومتوسطة ومتعددة النواة.

**الكلمات المفتاحية :** المجترات الصغيرة , للنسيج الظاهري المهبلى , عينة , التلون.

# *Remerciements*

## *A Allah*

*Le Tout Puissant, Qui nous a inspiré et guidé dans le bon chemin*

*Louange à Dieu nous a prodigué la force, la volonté et la patience durant toutes nos années d'étude et nous a permis de finaliser ce travail*

## *A mon encadreur M ACHIR Mohamed*

*Pour avoir accepté de diriger ce Mémoire, avec beaucoup d'attention et de patience Merci pour ses encouragements, son indéfectible aide, ses conseils et sa disponibilité permanente durant la réalisation de ce travail*

## *Aux membres du jury*

*Nous remercions également Mr TADJ AËK pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Nous remercions infiniment Mr HMIDA H membre de jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Aux madame RAHAY et monsieur WICHICH*

*A Monsieur le Chef Chef de spécialité TAIBI K*

*Nos reconnaissances à tous les enseignants de la spécialité biologie moléculaire et cellulaire.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à...*

## *A mes très chers parents*

*Mansour et Khadra*

*Aucune expression, ni aucune dédicace ne pourraient exprimer ma  
profonde et Cordiale reconnaissances.*

*Vous avez guidé mes premiers pas, et vous étiez toujours une source  
d'encouragement, le symbole de bonté par excellence.*

*J'espère réaliser en ce jour un de vos rêves, et être digne, de votre  
éducation et de votre confiance et de votre noble altruisme*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

*Puisse Dieu, le Tout Puissant, vous préserver et vous accorder santé,  
longue vie et bonheur.*

## *A ma très chère sœur et ma belle*

*Amira*

## *A mes très chers frères et sœurs*

*Mohamed, Ahmed, Nasira et Badra*

*A Khaldia pour ta patience, ton amitié, ton intégrité, ton humour !*

*Merci d'être là, ce n'est que le début d'une longue amitié j'espère...*

## *A mes très chères et adorables amies*

*Bouchra et Chahinez*

**RABIA**

## *A Ma très chère mère Fatima*

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le  
Symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du  
dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Je te dédie ce  
travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te  
préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

## *A mes très Chers Frères Hmida, Youcef, Abdou*

### *A ma très cher grande mère Saada*

*Ces quelques lignes ne sauront exprimer toute l'affection et l'amour que je vous  
porte. Puisse Dieu vous protéger, vous accorder santé et longue vie.*

### *A mon mari Abd Elmalek*

*Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail  
N'aurait vu le jour. Que Dieu réunisse nos chemins pour un long chemin serein et  
Que ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère  
et fidèle.*

### *A Rabia*

*Pour votre présence constante, dans les bons et les moins bons moments, votre  
aide et votre soutien, il n'y a pas de mots pour le dire mais c'est inestimable à mes  
yeux. Vous m'avez énormément apporté et j'espère qu'on restera ce trio gagnant.*

**KHALDIA**

# Table des matières

Résumés	
Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Synthèse bibliographique	
1. Rappels anatomiques et physiologiques de la reproduction chez les petits ruminants	
1.1 Rappels anatomiques.....	2
1.1.1 Anatomie de l'appareil reproducteur femelle .....	2
1.1.1.2 Section tubulaire.....	3
1.1.1.3 L'utérus .....	3
1.1.1.4 Le vagin.....	3
1.1.1.5 Sinus uro- genital ou vulve.....	3
1.2 Physiologie de la reproduction chez les brebis .....	4
1.2.1 Cycle œstral de la brebis .....	4
1.2.1.1 La phase folliculaire .....	4
1.2.1.2 La phase lutéale .....	4
2. Histologie du tissu vaginal chez les petits ruminants .....	5
2.1 Histologie du vagin.....	5
2.1.1 Séreuse et adventice .....	5
2.1.2 Musculeuse .....	5
2.1.3 Muqueuse .....	5
2.1.4 La propria .....	5



2.1.5	L'épithélium .....	6
2.2	Changements histologiques du vagin :.....	6
3.	Les différentes techniques de coloration.....	6
3.1	La coloration de May-Grünwald-Giemsa.....	6
3.2	La coloration de RAL 555 .....	6
3.3	La coloration de papanicolaou .....	7
3.4	La coloration de bleu de méthylène .....	7
3.5	La coloration de Harris Shorr.....	7

## Partie expérimentale

1	Matériel et méthodes .....	8
1.1	Matériel et Produits .....	8
1.2	Méthodologie.....	8
2	Résultats.....	13
2.1	Étude cytologique :.....	13
2.2	Description qualitative des cellules épithéliales .....	13
2.2.1	Cytologie vaginale.....	13
2.3	Description quantitative des cellules épithéliales.....	14

Discussion

Conclusion

Références bibliographiques

## Liste des tableaux

<b>Tableau.1</b> : Caractéristique de cycle sexuel de brebis.....	05
<b>Tableau.2</b> : La fréquence des cellules épithéliales de C 1.....	14
<b>Tableau.3</b> : La fréquence des cellules épithéliales de C 2.....	15
<b>Tableau.4</b> : La fréquence des cellules épithéliales de C 3.....	16
<b>Tableau.5</b> : La fréquence des cellules épithéliales de C 4.....	17
<b>Tableau.6</b> : La fréquence des cellules épithéliales de C 5.....	17
<b>Tableau.7</b> : La fréquence des cellules épithéliales de C 6.....	18
<b>Tableau.8</b> : La fréquence des cellules épithéliales de B 1.....	19
<b>Tableau.9</b> : La fréquence des cellules épithéliales de B 2.....	20
<b>Tableau.10</b> : La fréquence des cellules épithéliales de B 3.....	20
<b>Tableau.11</b> : La fréquence des cellules épithéliales de B 4.....	21
<b>Tableau.12</b> : La fréquence des cellules épithéliales de B 5.....	22
<b>Tableau.13</b> : La fréquence des cellules épithéliales de B 6.....	23
<b>Tableau.14</b> : La fréquence des cellules épithéliales de B 7.....	23
<b>Tableau.15</b> : La fréquence des cellules épithéliales de B 8.....	23

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : anatomie de l'appareil génital de la brebis.....	02
<b>Figure 2</b> : Structure de l'ovaire chez la brebis.....	03
<b>Figure 3</b> : Protocole expérimental.....	09
<b>Figure 4</b> : réalisation des frottis.....	10
<b>Figure 5</b> : Etalement du frottis.....	10
<b>Figure 6</b> : Fixation du frottis.....	11
<b>Figure 7</b> : colorant <i>RAL 555</i> .....	11
<b>Figure 8</b> : colorant <i>MGG</i> .....	12
<b>Figure 9</b> : microscope optique tri-oculaire ( <b>ZEISS</b> ) .....	12
<b>Figure 10</b> : Observation microscopique du frottis C1.....	14
<b>Figure 11</b> : Observation microscopique du frottis C2.....	15
<b>Figure 12</b> : Observation microscopique du frottis C3.....	16
<b>Figure 13</b> : Observation microscopique du frottis C4.....	17
<b>Figure 14</b> : Observation microscopique du frottis C5.....	17
<b>Figure 15</b> : Observation microscopique du frottis C6.....	18
<b>Figure 16</b> : Observation microscopique du frottis B1.....	19
<b>Figure 17</b> : Observation microscopique du frottis B 2.....	19
<b>Figure 18</b> : Observation microscopique du frottis B 3.....	20
<b>Figure 19</b> : Observation microscopique du frottis B 4.....	21
<b>Figure 20</b> : Observation microscopique du frottis B 5.....	22
<b>Figure 21</b> : Observation microscopique du frottis B 6.....	22
<b>Figure 22</b> : Observation microscopique du frottis B 7.....	23

## **Liste des abréviations**

**CE** : des cellules épithéliales

**PNN** : des polynucléaires neutrophiles

**MGG**: coloration de May-Grünwald-Giemsa

## Introduction

Les études sur la reproduction chez les mammifères ont débuté dès le début du XXème siècle. Ainsi en 1900 Walter Heape a défini les différentes phases du cycle sexuel. En 1931 Herbert McLean Evans et Herold Harrison Cole, sont les premiers à avoir étudié les frottis vaginaux. Par ailleurs, dans les années 60 et 70 de très nombreuses recherches ont permis de mieux connaître l'endocrinologie sexuelle femelle. (Anne.2005)

Dans ce sens, de nombreuses techniques de diagnostic du statut reproductif, se distinguent par la technicité, la rapidité et le cout que requiert leur mise en œuvre. La caractérisation de l'épithélium vaginal peut être effectuée par des examens cytologiques et histologiques

Par ailleurs, le cycle œstral chez les petits ruminants est défini comme l'intervalle de temps qui sépare deux œstrus (Berger et Ginisty. 1980). D'autre part, plusieurs études ont montré qu'au cours du cycle œstral, l'épithélium vaginal subit des variations importantes de sa structure cytologique.

Dans ce contexte, la présente étude a pour but d'analyser les variations de la cytologie vaginale chez les petits ruminants suivant les stades physiologiques différents.

Notre travail vise donc à étudier le comportement de l'épithélium vaginal dans différents stades physiologiques chez les petits ruminants (ovin et caprin), et ce en vue de déterminer et caractériser la morphologie cellulaire. Les frottis vaginaux sont une technique cytologique simple, facile à pratiquer et moins couteuse (Boutelis.2011).

Le présent mémoire s'articule donc sur ;

- Une première partie bibliographique à travers laquelle nous abordons les concepts clés sur : l'anatomie de l'appareil reproducteur femelle, la physiologie chez les brebis, l'histologie du tissu vaginal chez les petits ruminants pour finir par mettre le point sur Les différentes techniques de coloration.
- Une deuxième partie comportant les techniques expérimentales pour l'étude cytologique les frottis vaginaux des petits ruminants pendant les différentes phases du cycle œstral.
- Une troisième partie, qui traite analytiquement les résultats et discussion de notre expérimentation.

*Synthèse  
bibliographique*

# 1 Rappels anatomiques et physiologiques de la reproduction chez les petits ruminants

## 1.1 Rappels anatomiques

### 1.1.1 Anatomie de l'appareil reproducteur femelle

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

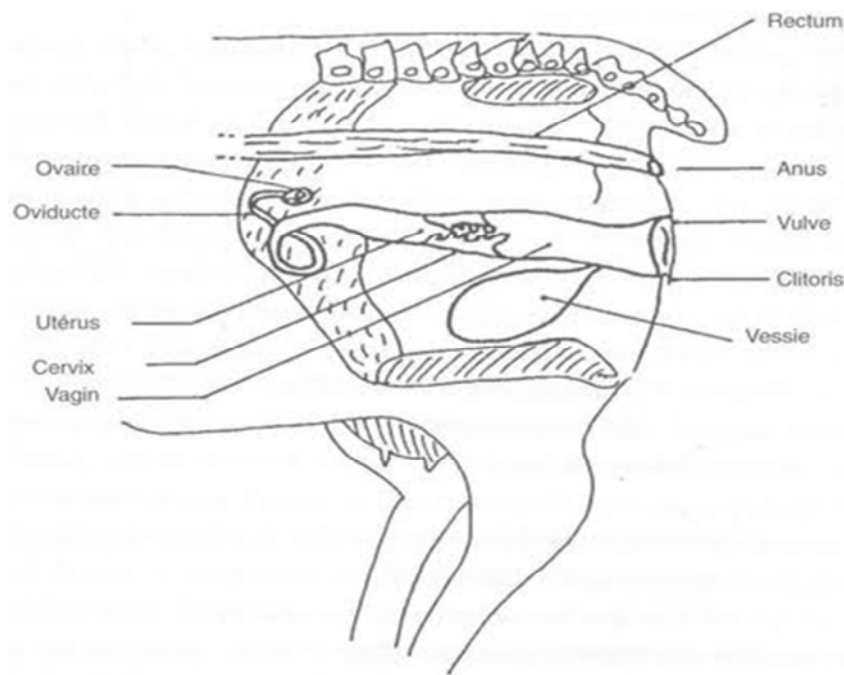


Figure n°1 : anatomie de l'appareil génital de la brebis

L'appareil reproducteur de la brebis est composé de deux parties :

#### 1.1.1.1 La section glandulaire

Deux gonades ou ovaires ayant une double fonction, l'élaboration des gamètes femelles et synthèse d'hormones femelles,

L'ovaire est la glande génitale de la femelle. C'est un organe pair, appendu à la région lombaire et pourvu d'une double fonction : gamétogénèse, assurant l'ovogénèse, et endocrine, commandant (sous le contrôle de l'hypophyse) toute l'activité génitale par la sécrétion des hormones œstrogènes et progestatives (Barone.1978).

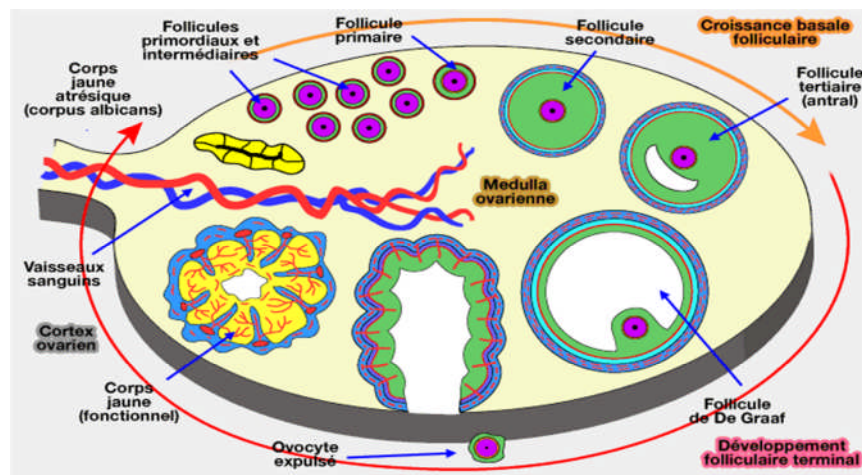


Figure n° 2 : Structure de l'ovaire chez la brebis (Gilbert et al .1995).

### 1.1.1.2 Section tubulaire

D'après Gilbert et *al* ,2005,l'oviducte est lieu de fécondation l'utérus organe de gestation, le vagin et la vulve organes d'accouplement.

### 1.1.1.3 Utérus

C'est l'organe fondamental de la reproduction, Il est de type bipartitus, avec un corps court, prolongé de deux cornes d'une longueur D'environ 40 cm. Ces cornes sont enroulées et se terminent par l'oviducte. Il comprend trois parties : le corps et les cornes utérines, le col, et les oviductes (Barone, 1978).

### 1.1.1.4 Vagin

C'est conduit impair et médian. Entièrement logé dans la cavité pelvienne, il est en quelque sorte annexé au sinus uro-génitale pour constituer avec lui l'organe copulateur de la femelle (Barone., 1978).C'est l'endroit où la semence est déposée lors de la saillie (Baril *et al* , 1993)

### 1.1.1.5 Sinus uro- genital ou vulve

C'est la partie commune à l'appareil urinaire et génitale. Elle est formée par le vestibule vaginale et l'orifice vulvaire, délimité par des lèvres. (Gilbert et al.1995).



## 1.2 Physiologie de la reproduction chez les brebis

### 1.2.1 Cycle œstral de la brebis

Chez la brebis, pendant la saison de reproduction, l'activité sexuelle se manifeste par le fait que les femelles viennent régulièrement en chaleur, tous les 17 jours en moyenne.

L'intervalle entre les chaleurs constitue le cycle sexuel ou cycle oestral. Chaque cycle est caractérisé par l'apparition périodique d'un comportement sexuel, ou oestrus qui s'exprime autour de l'ovulation (Goodman et Inskeep, 2006).

Ce cycle de 17 jours peut être décomposé en deux phases :

#### 1.2.1.1 Phase folliculaire

Cette phase dure de 2 à 3 jours et correspond à la période de croissance folliculaire terminale s'achevant par l'ovulation.

#### 1.2.1.2 Phase lutéale

Dure de 14 à 16 jours et s'étale de l'ovulation jusqu'à la régression du corps jaune. Elle correspond à la phase de préparation de l'utérus en vue de l'implantation de l'embryon. En absence de fécondation, la phase lutéale est interrompue et laisse place à une nouvelle phase folliculaire et donc à un nouveau cycle sexuel (Goodman, 1994).

Les brebis ont un rythme saisonnier de reproduction dépendant de la variation de la durée du jour au cours de l'année (Thibault et Levasseur, 2001 ; Thimonier *et al.* 2000).

Le cycle sexuel dont la durée varie en fonction de l'espèce peut être divisé en quatre périodes correspondant à différentes phases de l'activité ovarienne (Heape, 1900 ; Berthelün, 1939, cités par Vaissaire J.P., 1977)

- **Pro-œstrus** : c'est la période de maturation folliculaire (phase folliculinaire) ;
- **Œstrus** : c'est la période des chaleurs ou rut qui correspond à l'état physiologique des femelles de Mammifères qui les pousse à rechercher l'accouplement, on parle également de femelle en chasse ou en folie. Elle correspond également à la maturation folliculaire suivie de l'ovulation ;
- **Post-œstrus ou metœstrus** : c'est la période qui correspond à la formation puis au fonctionnement du corps jaune avec l'installation d'un état prégravidique de l'utérus (phase lutéale) ;
- **Dioestrus ou anœstrus** : c'est la période de repos sexuel correspondant à la lutéolyse. Cette phase peut être très longue ;(cité par Abdoul Wane, 1989).

Tableau 1 : Caractéristique de cycle sexuel de brebis (Gilbert et *al*, 1995)

Espèce	Age de la puberté (mois)	Saison sexuelle	Durée moyenne du cycle (jours)	Durée de l'œstrus	Durée de la phase lutéale (jours)	Durée de la phase préovulatoire (jours)	Moment de l'ovulation par rapport à l'œstrus
Brebis	6 à 18	Août à septembre	17	24 à 36 h	14	3	32 h après le début

## 2 Histologie du tissu vaginal chez les petits ruminants

### 2.1 Histologie du vagin

La paroi du vagin est formée de trois couches d'inégale importance. La plus superficielle est polymorphe : elle est constituée crânialement par péritoine et sa sous-séreuse et caudalement par une adventice. Plus profondément viennent une musculuse et une muqueuse (Wheater et al.2001).

#### 2.1.1 Séreuse et adventice

La séreuse est formée par péritoine viscéral. Elle est doublée d'une sous- séreuse lâche, qui permet sa mobilité. Cette couche conjonctive mêlée de fibres élastiques se densifie caudalement au péritoine pour former l'adventice

#### 2.1.2 Musculeuse

Le muscle vaginal est relativement mince, de teinte rosée, traversé par de nombreux vaisseaux et nerfs. Il est mêlé d'un conjonctif interfasciculaire abondant, continu avec l'adventice. (Barone.1978)

#### 2.1.3 Muqueuse

La muqueuse vaginale est relativement mince. Elle se raccorde par un changement de structure en général assez brusque à celle du col utérin. (Aughey et Frye .2001).

#### 2.1.4 Propria

C'est un tissu conjonctif dense, mêlé de fibres élastiques et souvent infiltré de lymphocytes. Ceux-ci s'accumulent en certains points, surtout dans la partie caudale de l'organe, pour former des lymphonodules. (Stevens et Lowe.2006).

### **2.1.5 L'épithélium**

C'est un pavimenteux stratifié ses cellules, polyédriques en profondeur, deviennent plus plates en surface et peuvent prendre un aspect monoïde; On peut en outre y rencontrer quelques cellules migrantes. (Barone.1978).

### **2.2 Changements histologiques du vagin :**

La structure histologique du vagin, comme celles des autres parties du tractus génital, Comporte une muqueuse, une musculuse et une séreuse. La muqueuse vaginale est bordée principalement par un épithélium squameux stratifié. Elle ne contient aucune structure glandulaire et son épaisseur varie au cours du cycle sexuel.

En phase folliculaire, chez la brebis la muqueuse vaginale comprend quelques couches des cellules épithéliales. Alors que pendant la phase lutéale, il se compose de plusieurs couches de cellules épithéliales cylindriques basses, cuboïdes ou aplatis. Ces mêmes constatations ont été signalées par (Miroud et Noakes.2006).Selon Blazquez et al.1989, À toutes les phases du cycle œstral, l'épithélium vaginal Crânial est mince, avaient moins de couches de cellules et proportionnellement avaient plus de cellules cylindriques superficielles que les régions les plus caudale.

## **3 Les différentes techniques de coloration**

Le praticien doit choisir une technique de coloration qui soit à la fois la plus simple à effectuer, se conservant bien, et qui doit éviter les erreurs de lecture en donnant des résultats constants (Feldman et Nelson 1996).

### **3.1 La coloration de May-Grünwald-Giemsa**

On appelle aussi hématoxyline éosine. L'hématoxyline qui est le responsable à la coloration du noyau ; et l'éosine à la coloration du cytoplasme. Les avantages de cette technique résident dans son faible coût et dans sa rapidité d'exécution. (Anne.2005) ; Cette technique est couramment utilisés (Neveux 1999).

### **3.2 La coloration de RAL 555**

C'est une coloration rapide différentielle des frottis sanguins et médullaires; La recherche de protozoaires sanguicoles et tissulaires en mycologie médicale et vétérinaire ; L'étude cytologique et structurale des coupes de tissus fixés. L'interprétation des frottis est identique à celle des colorations classiques (MGG). (Datry.1982).

### **3.3 La coloration de papanicolaou**

Cette coloration a été décrite par Georges Papanicolaou en 1942 ; est une coloration cytologique qui permet de différencier les cellules. Ainsi, on observe : Les noyaux des cellules qui apparaissent en bleu/noir ; Les cytoplasmes des cellules non kératinisées en bleu/vert ; Les cytoplasmes des cellules kératinisées en rose/orange et Les hématies en rouge.

### **3.4 La coloration de bleu de méthylène**

C'est une coloration rapide et peu coûteuse, grâce à laquelle la visualisation de la morphologie cellulaire est bonne ; mais le bleu de méthylène n'est presque plus utilisé à l'heure actuelle, car elle ne permet pas la conservation des lames et ne colore pas les hématies, ce qui rend parfois l'interprétation difficile (Guyant 1988, Neveux 1999, Johnston et al. 2001b, Olson et al. 1984a et b, Feldman et Nelson 1996, Simmons 1970).

### **3.5 La coloration de Harris Shorr**

Cette coloration trichrome a été mise au point par Ephraïm Shorr en 1940 (Shorr 1940); L'intérêt de cette technique est la coloration orangée des précurseurs cytoplasmiques de la kératine (Olson et al. 1984). La lecture est aisée, car les cellules sont différenciées; Les désavantages sont sa durée de mise en œuvre (une quinzaine de minute), ce qui en fait l'une des techniques les plus longues ainsi que le grand nombre de récipients de produits mis à disposition (Feldman et Nelson 1996).

## **Partie expérimentale**

Notre travail expérimental s'est étalé sur une période de 15 jours (durant le mois de Mai 2019), la méthodologie adoptée dans cette recherche est de réaliser en premier lieu des frottis vaginaux chez des femelles de l'espèce ovine et caprine à différents stades physiologiques dans deux exploitations situées dans région de Sougueur et pratiquant un élevage mixte(ovin et caprin) et en deuxième lieu, une préparation des échantillons à observer sous microscope dans le laboratoire de biochimie de l'institut des sciences vétérinaires de l'université Ibn Khaldoun-Tiaret.

### **1 Matériel et méthodes**

#### **1.1 Matériel et Produits**

Le matériel et les produits utilisés sont :

- Cytobrosses et lames,
- Fixateur à base d'alcool,
- Colorants (*RAL 555 et MGG*).
- Microscope optique tri- oculaire *ZEISS*.

#### **1.2 Méthodologie**

La démarche méthodologique adoptée dans notre investigation est indiquée dans figure n°3

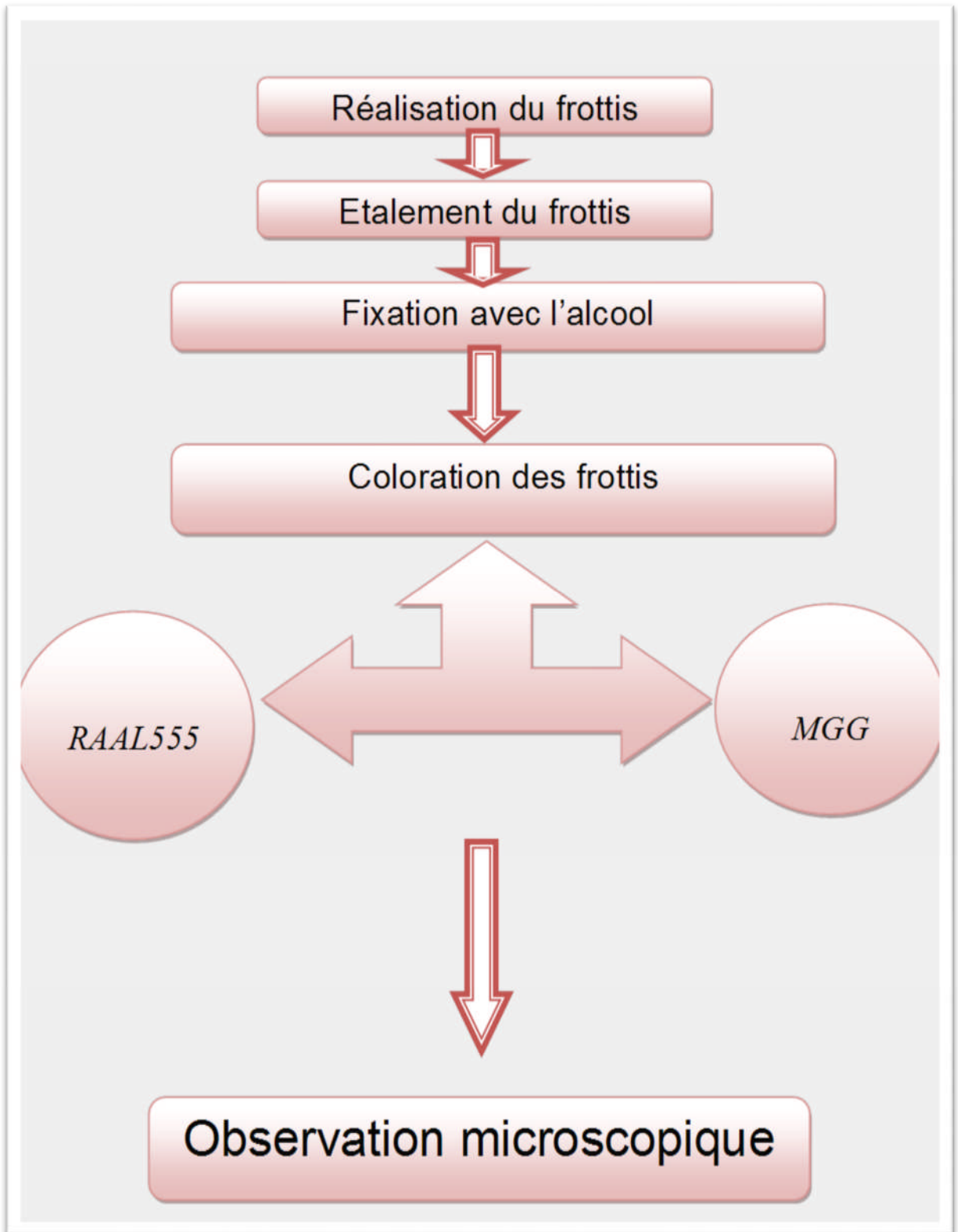


Figure n°3 : protocole expérimental

La démarche méthodologique adoptée dans notre travail expérimental est la suivante :

Avant la réalisation des frottis vaginaux certaines mesures hygiéniques doivent être respectées le nettoyage de vagin avec l'eau chaud ou bien papier alcoolisé est une étape essentielle avant le prélèvement, qui doit être rapide, facile et praticable à toutes les phases du cycle pour obtenir un échantillon cellulaire fiable (Johnston et al. 2001).

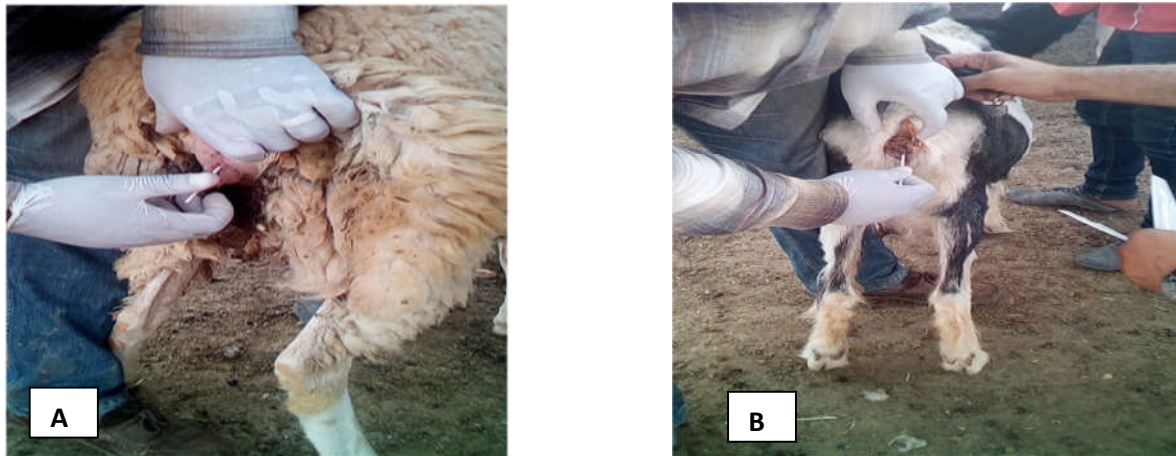


Figure n°4: Réalisation des frottis  
A : Chez la brebis    B : chez la chevre

Figure n°5 : la réalisation du frottis chez les chèvres

La 2<sup>ème</sup> étape consiste à étaler le frottis sur une lame de microscope (figure n°5), ce dernier doit être fixé immédiatement (dans les quelques secondes qui suivent l'étalement sur la lame), alors qu'il est encore humide.



Figure n°5 : Etalement du frottis

Généralement les cytofixateurs qui sont toujours utilisés sous forme de spray, cette technique peut être préférée du fait de son efficacité et de sa facilité d'utilisation et de conservation du fixateur (Concannon et Digregorio 1987).



Figure n°6 : fixation du frottis

Avant l'observation au microscope les frottis réalisés sont colorés par :

- **Coloration RAL 555** : cette technique de coloration est basée sur l'utilisation de 3 produits et contient 4 étapes :-on plonge la lame dans le fixateur –RAL 5 fois pendant 5 secondes, puis on égoutte sur un papier absorbant, ensuite on introduit la lame dans l'éosine –RAL 5 fois pendant 5 secondes, puis on égoutte sur le papier, après on plonge la lame dans le bleu –RAL 5 fois pendant 5 secondes enfin on rince rapidement la lame par l'eau courant et on sèche avec un papier absorbant (Datry.1982).



Figure n°7 : Colorant RAL 555



- **Coloration May-Grünwald-Giemsa** : le principe de cette technique repose sur l'action combinée de deux colorants neutres, le **May-Grünwald** et le **Giemsa**, pour faire la coloration on a suivre les étapes suivants : on dépose 10 à 15 gouttes de May-Grünwald sur le frottis et couvrir pour éviter l'évaporation pendant 3 min. C'est la fixation, Après on dépose 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée et mélanger par rotation de la lame. 1 min puis on égoutte, ensuite on recouvre le Giemsa dilué 15 min. c'est la coloration, puis on égoutte et on lave à l'eau neutre, enfin on sèche au papier joseph. (Emberty.1979)



Figure n°8: Colorant MGG

La 5<sup>ème</sup> étape est l'observation qui était fait à l'aide d'un microscope optique **ZEISS** tri oculaire couplée avec caméra liée avec un ordinateur, les lames sont examinées par différents grossissement (X10, X40).

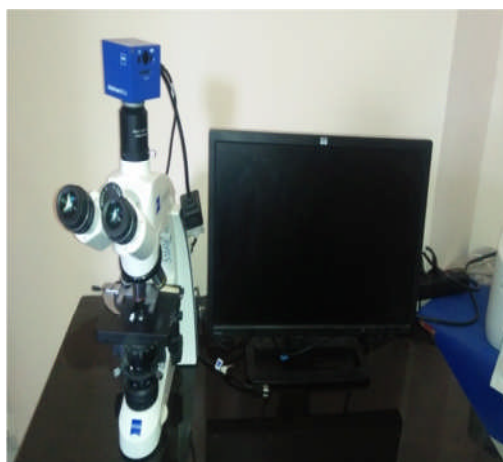


Figure n°9: Microscope optique Tri-oculaire (ZEISS)

## **2 Résultats**

Au cours de l'observation, plusieurs frottis ont été exclus de l'étude en raison de la présence d'un défaut coloration.

### **2.1 Étude cytologique :**

Notre travail consiste à caractériser les frottis cytologiques de l'épithélium vaginal. Il s'agit tout d'abord d'évaluer, qualitativement puis quantitativement, les cellules épithéliales présentes dans les frottis vaginaux et détecter une éventuelle variabilité entre les cellules épithéliales vaginales dans différents stades physiologiques.

### **2.2 Description qualitative des cellules épithéliales**

L'examen microscopique des frottis que nous avons réalisé, nous a permis la mise en évidence : des cellules épithéliales(CE), des polynucléaires neutrophiles (PNN).

#### **2.2.1 Cytologie vaginale**

##### **2.2.1.1 Cellules parabasales**

Ce sont les plus petites cellules épithéliales présentes sur les frottis vaginaux, Leur forme est généralement ronde et uniforme (Schutte., 1967). Leur noyau est rond et volumineux, et leur cytoplasme peu abondant ; le rapport nucléo-cytoplasmique est donc plus élevé. On peut les observer en colonne (le cytoplasme est étiré et que le noyau est excentré) (Neveux., 1999).

##### **2.2.1.2 Les cellules intermédiaires :**

Deux types de cellules intermédiaires ont été définis.

- Les petites cellules intermédiaires :

Leur forme est ronde, ovale ou angulaire. La plus part sont ellipsoïdes (Johnston *et al.*, 2001).Leur noyau est rond. Leur taille est variable, elle est plus grande que les cellules parabasales.

- Les grandes cellules intermédiaires :

Elles sont plates, Leur contour est anguleux. Leur noyau est rond. Leur taille est variable, elle est plus grande que les cellules parabasales et les petites cellules intermédiaires.

### 2.2.1.3 Cellules superficielles

Ce sont les plus grandes cellules épithéliales présentes sur les frottis vaginaux. Les bords cellulaires sont irréguliers, et plissés. Leur noyau est pycnotique, absent, ou on ne peut distinguer que sa silhouette (Johnston *et al.* 2001).

Il y a d'autres cellules présentes dans les frottis vaginaux comme les polynucléaires neutrophiles (PNN).

### 2.3 Description quantitative des cellules épithéliales

Cette description permet de mettre en évidence le nombre ou bien la fréquence de cellules présentes dans les frottis.

Frottis C1 : Ce frottis est réalisé chez une chèvre âgée de 5 ans qui a mis bas après 2 mois environ.

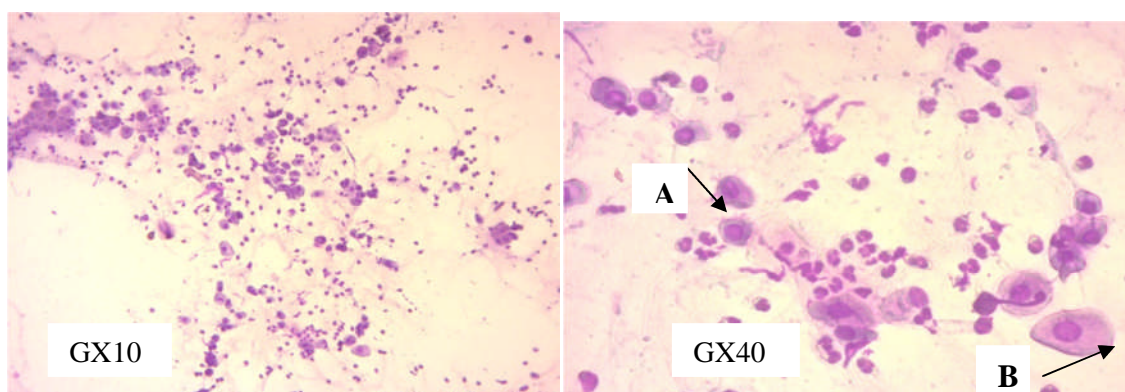


Figure n°10 : Observation microscopique du frottis C1 coloré au RAL 555

(A : parabasale / B : intermédiaire).

Tableau 2: Fréquence des cellules épithéliales de C 1

Type de cellule	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	++	+		+++

On remarque que la fréquence des cellules parabasales est relativement élevée par rapport aux cellules intermédiaires avec l'existence de quelques PNN. Cependant on constate une absence totale de cellules superficielles.

- Frottis C 2 :

Ce frottis est réalisé chez une chèvre d'âge approximatif de 4 ans et se trouvant en période de *post-partum* (25 jours environ).

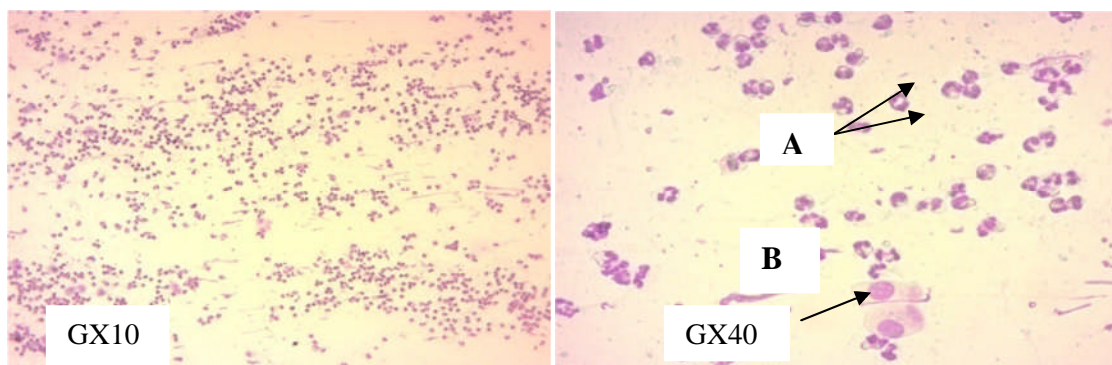


Figure n°11 : Observation microscopique du frottis C 2coloré au RAL 555 (A : PNN ; B : intermédiaire).

Tableau 3: la fréquence des cellules épithéliales de C 2

Type de cellule	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	+	+++	-	++++

La dominance des cellules intermédiaires par rapport les cellules parabasales avec La présence d'un nombre important de neutrophiles.

Frottis C 3 :

Il s'agit pour ce frottis d'une autre caprin (chèvre) âgé de 8 ans qui a mis bas depuis environ trois mois.

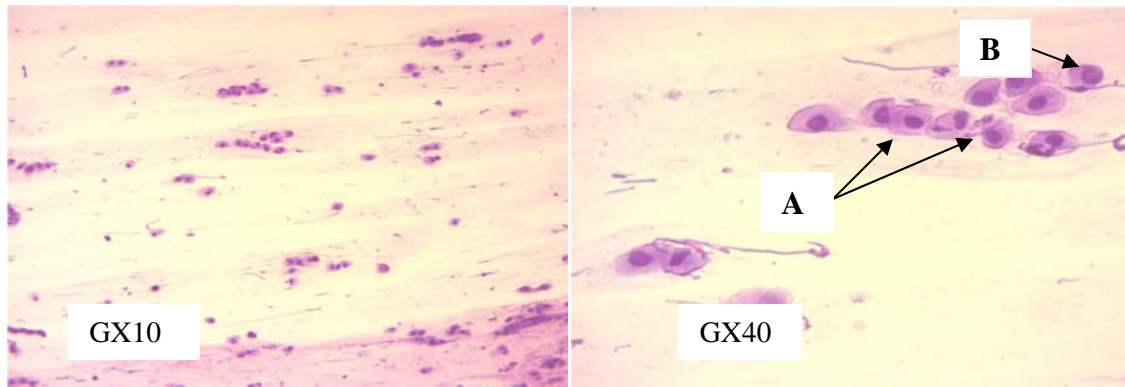


Figure n°12 : Observation microscopique du frottis C3coloré au RAL 555  
(A : intermédiaire ; B : parabasale).

Tableau 4: Fréquence des cellules épithéliales de C 3

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	+++	+		

Le nombre assez important de cellules parabasales que le nombre de cellules intermédiaires.

Frottis C4 : Cette préparation a été réalisée chez un caprin âgé de 4 moins environ.

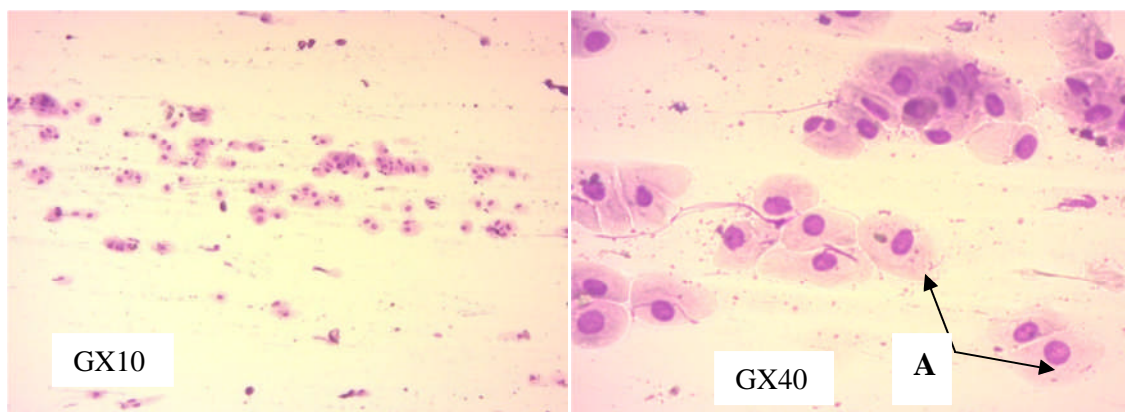


Figure n°13 : Observation microscopique de frottis C 4coloré au RAL 555  
(A : intermédiaires).

Tableau 5: la fréquence des cellules épithéliales de C 4

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
fréquence	+	+++		

L'observation microscopique la prédominance de cellules intermédiaires par rapport aux cellules parabasales. Cependant on remarque qu'il y a absence totale de PNN.

Frottis C 5 :

Il s'agit dans ce cas d'une caprin âgé de 3 ans et 2 moins après la mise-bas.

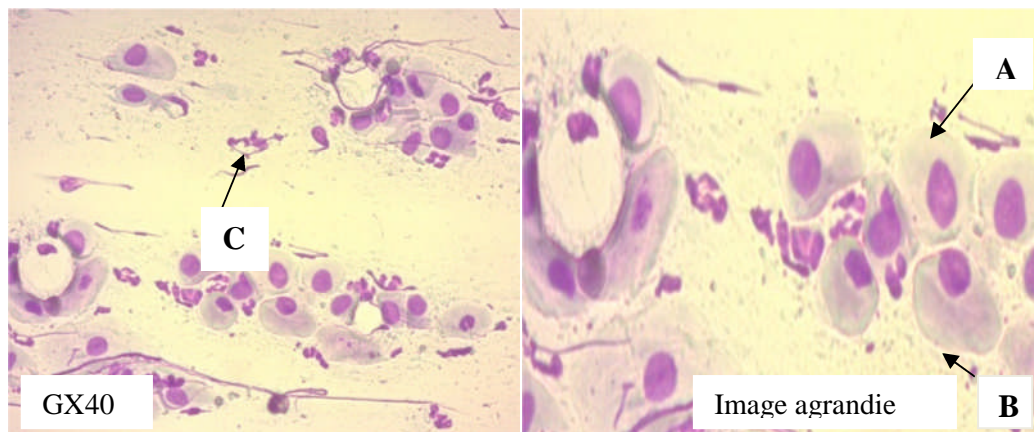


Figure n°14 : Observation microscopique du frottis C 5 coloré au RAL 555  
(A : parabasale, B : intermédiaire, C : PNN)

Tableau 6: fréquence des cellules épithéliales de C 5

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
C 5	+++	++		+

L'observation au microscope photonique montre la présence d'un grand nombre de parabasales, un nombre important de cellules intermédiaires et un faible taux de neutrophiles.

Frottis C6 :

ce frottis a été réalisé chez un caprin âgée de 5 ans.

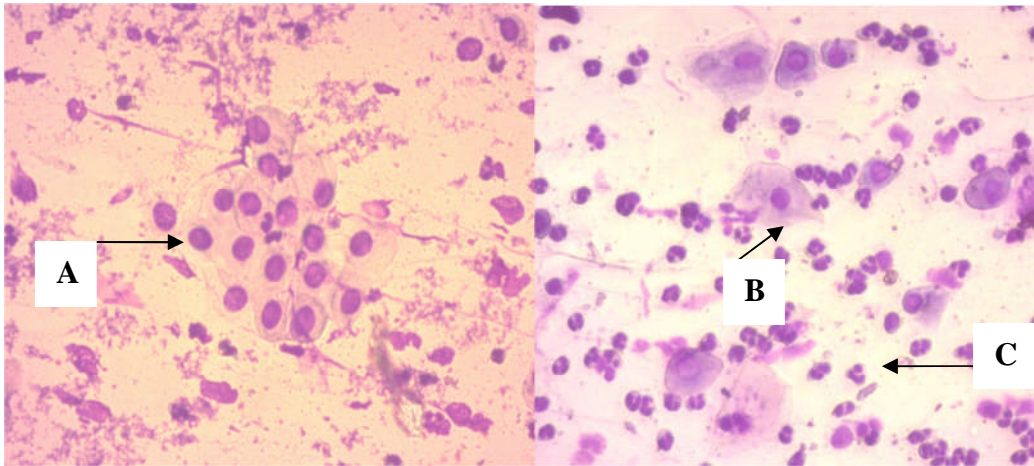


Figure n°15 : Observation microscopiques de frottis C 6(image l'adroite coloré au MGG;la gauche coloré au RAL555)  
(A : parabasale ; B : intermédiaire ; C : PNN).

Tableau 7: la fréquence des cellules épithéliales de C 6

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	+++	++		+++++

On aura noté une remarquable prédominance des cellules PPN ; s'ensuit la fréquence des cellules parabasales qui est plus élevée que celle des cellules intermédiaires.

#### Frottis B 1 :

On a réalisé ce frottis 25 jours après la mise-bas chez l'espèce ovine .il s'agit d'une brebis âgée de 4 à 5 ans environ.

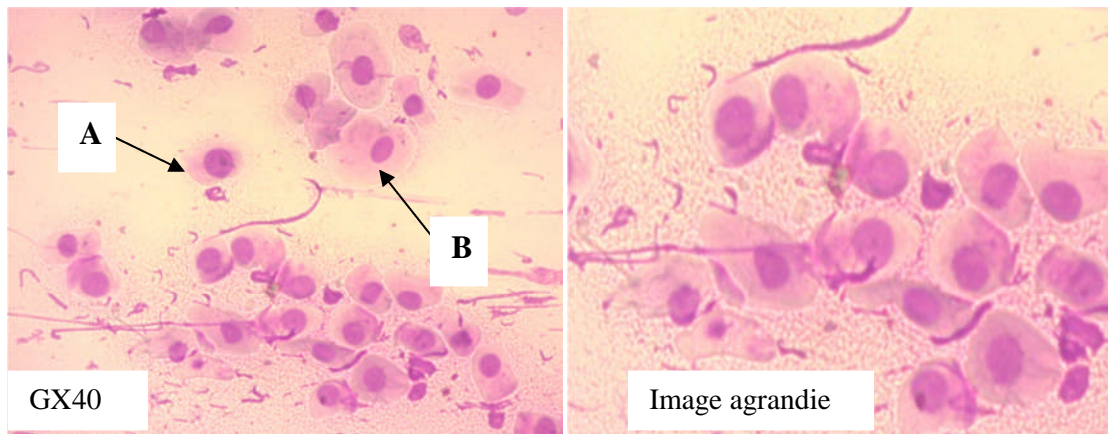


Figure n°16 : Observation microscopique de frottis B 1 coloré au RAL555 (A : parabasale ; B : intermédiaire).

Tableau 8: Fréquence des cellules épithéliales de B 1

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	+	+++		+

On remarque dans l'illustration ci-dessus (figure n°6) l'existence de quelques parabasales et la dominance des cellules intermédiaires avec un faible nombre PNN.

Brebis 2 :

Ce frottis est réalisé chez une brebis de 4 à 5 ans environ et 15 jours après mise –bas.

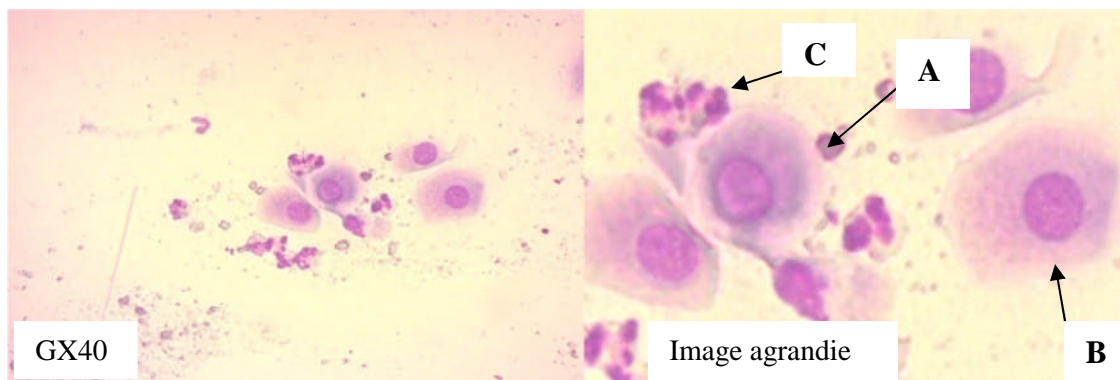


Figure n°17: Observation microscopique de frottis B 2 coloré au RAL555 (A : parabasale ; B : intermédiaire ; C : PNN).



Tableau 9: Fréquence des cellules épithéliales de B 2

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	+	++++		+++

L'observation microscopique a révélé une grande fréquence de cellules intermédiaires (++++) et un faible nombre de cellules parabasales. Les PNN en revanche sont relativement fréquents (+++).

Frottis B 3 :

Ce frottis est réalisé chez une brebis gestante à terme (juste quelques jours avant mise bas).

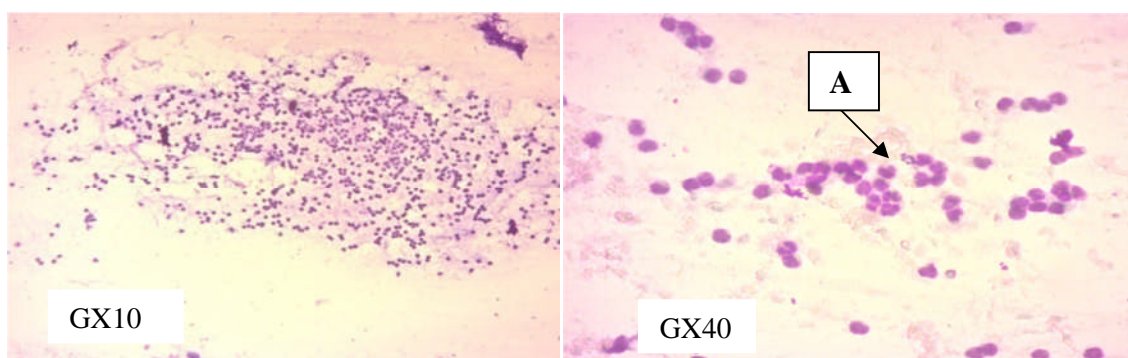


Figure n°18 : Observation microscopique de frottis B 3 coloré au RAL555 (A : PNN).

Tableau 10: Fréquence des cellules épithéliales de B 3

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	+	+++	++	++++

Le tableau ci-dessus montre un taux élevé de PNN, un nombre important de cellules intermédiaires et superficielles et en fin un faible taux de cellules parabasales.

Frottis B4 :

Le frottis a été réalisé chez un ovin âgé de 5 mois.

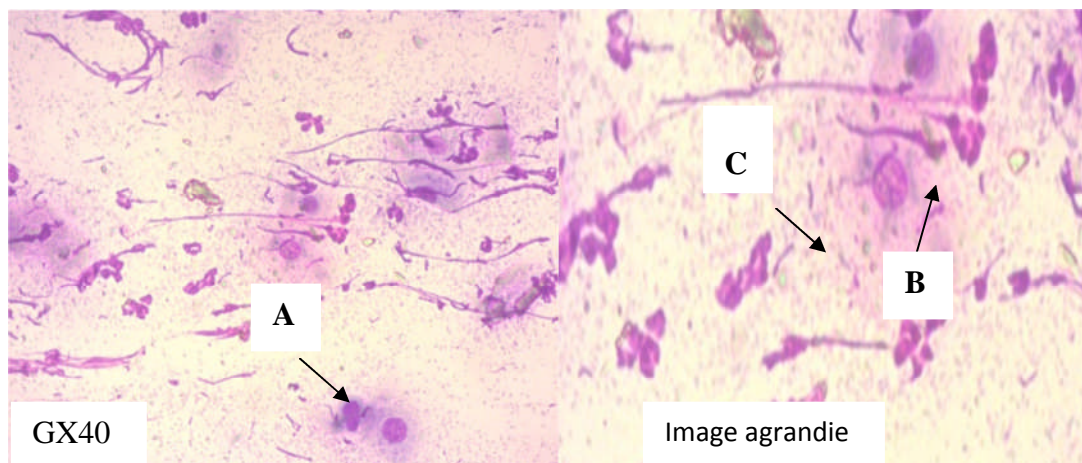


Figure n°19 : Observation microscopique de frottis B 4 coloré au RAL555 (A : Parabasale ; B : intermédiaire ; C : PNN).

Tableau 11: fréquence des cellules épithéliales de B 4

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	++	+++		++++

D'après l'observation microscopique du frottis on remarque la présence d'un grand nombre de cellules intermédiaires et de PNN par rapport aux cellules parabasales dont le taux est relativement faible, alors que les cellules superficielles sont quasi-absentes.

#### Frottis B5 :

Cette préparation a été réalisée chez un ovin âgé de 12 mois environ.

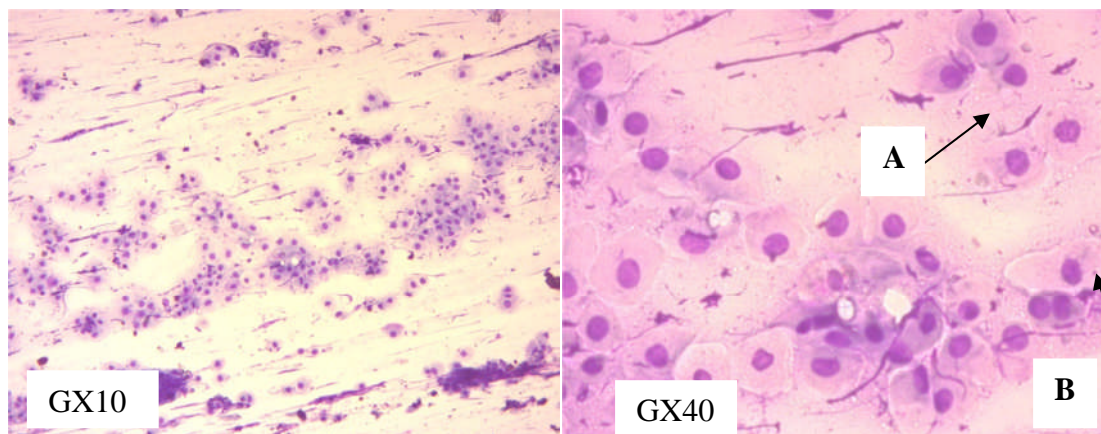


Figure n°20 : Observation microscopique de frottis B 5 coloré au MGG  
(A : Parabasale ; B : intermédiaire).

Tableau 12: Fréquence des cellules épithéliales

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence		++++		

On aura noté la prédominance des cellules intermédiaires et l'absence de cellules : parabasales, superficielles et PNN.

#### Frottis B6 :

On a réalisé ce frottis chez un ovin âgé de 12mois.

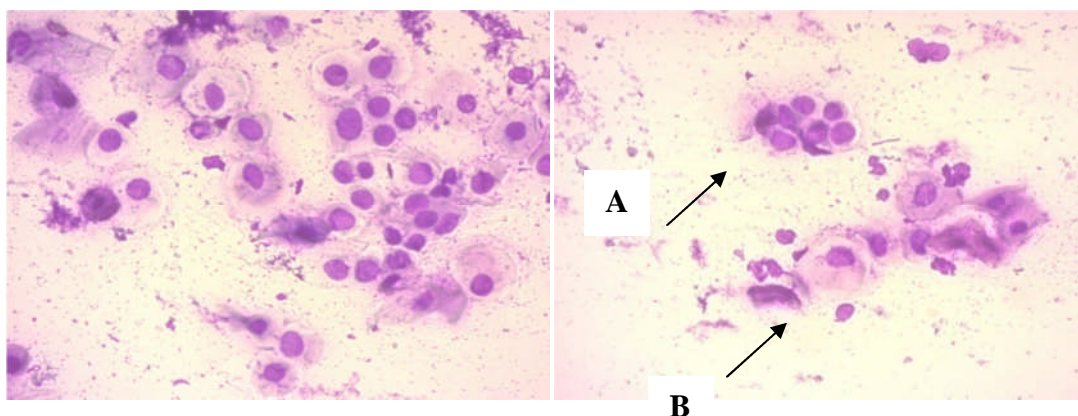


Figure n°21 : Observation microscopique de frottis B 6 coloré au MGG (A : Parabasale ; B : intermédiaire).GX40

Tableau 13: la fréquence des cellules épithéliales de B 6

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	++++	++		+

L'observation microscopique a révélé qu'un nombre conséquent de cellules parabasales comparativement à celui des cellules intermédiaires ; ainsi que l'existence de quelques PNN.

Frottis B7 : Cette préparation a été réalisée chez une brebis âgée de 4 ans environ.

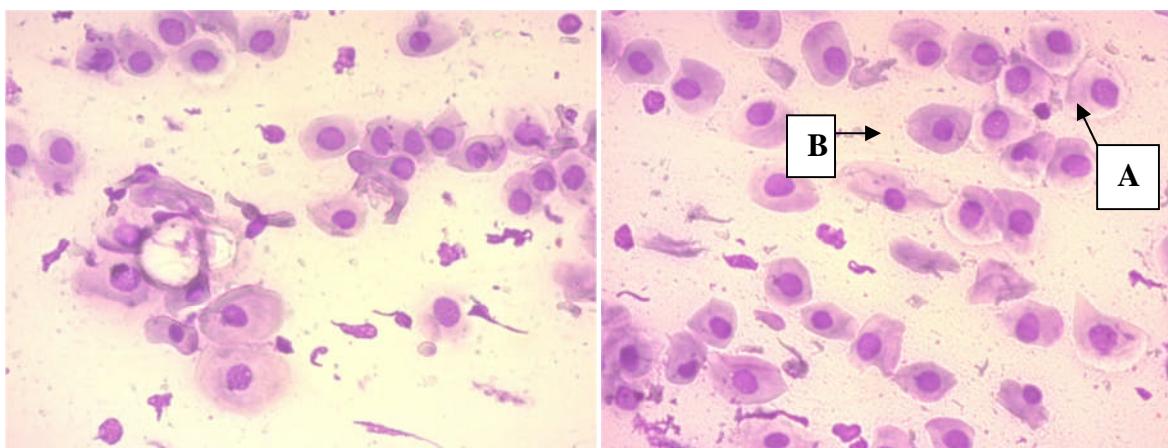


Figure n°22 : Observation microscopique de frottis B 7 coloré au RAL555 (A : Parabasale ; B : intermédiaire).

Tableau 14: Fréquence des cellules épithéliales de B 7

Type cellulaire	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Fréquence	+++	++		+

L'observation microscopique a révélé qu'un nombre conséquent de cellules parabasales comparativement à celui des cellules intermédiaires ; ainsi que l'existence de quelques PNN.

Frottis B8 :

Le frottis a été réalisé sur une brebis âgée de 8 ans.

Tableau 15: la fréquence des cellules épithéliales de B 8

Type	Parabasale	Intermédiaire	Superficiel	PNN
Type cellulaire	++	+	++	+++

On a noté la prédominance de cellules parabasale, superficielles et PNN, avec quelques cellules intermédiaires.

## Discussion

Depuis longtemps Plusieurs auteurs (Cole et Miller, 1935; Sanger et al. 1958; Kraznicakova et al. 1992) ont signalé le rôle de la cytologie vaginale comme outil de diagnostic pour détecter les stades de reproduction chez la brebis et chez la chèvre.

Par ailleurs, Zohara et al (2014) montre que les cellules épithéliales vaginales et les modifications de la concentration sérique de progestérone au cours du cycle sexuel pourraient également être un outil utile pour la détection des phases du cycle œstral et l'ovulation chez les brebis C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui vise à étudier le comportement de l'épithélium vaginal chez les ovins et les caprins suivant différents stades physiologiques.

L'analyse d'un frottis vaginal est en grande partie un exercice consistant à classer les cellules épithéliales dans l'un des trois types fondamentaux: cellules parabasales, intermédiaires et superficielles.

Ainsi, L'observation microscopique des différents frottis réalisés a permis de détecter une diversité de types cellulaires variant du type parabaasal, superficiel, intermédiaire aux cellules polynucléaires.

Par ailleurs on remarque la dominance de cellules parabasales et la prédominance des cellules intermédiaires avec la présence de quelques neutrophiles chez les caprin 1 et 5 (figure 1,5) cependant, Robinson et Moore (1956) cités par Mauleon(1972) signalent que les polynucléaires sont peu nombreux les jours qui suivent l'œstrus mais restent présents pendant tout le cycle chez la brebis.

Par contre chez la brebis 1 et 4, l'observation microscopique montre la présence d'un grand nombre de cellules intermédiaires et de PNN par rapport aux cellules parabasales dont le taux est relativement faible, ce qui signifie que les deux caprins ont au même stade physiologique qui diffère au stade physiologique des deux ovins, ces résultats sont conformes aux Descriptions cytologiques faites par Sanger et coll. (1958) et Thibault(1971) pour la brebis.

D'une part, Les frottis vaginaux présentent des variations qualitatives et quantitatives durant tous les stades physiologiques. Ainsi Robinson et Moore(1956) cités par Mauleon(1972) signalent que les polynucléaires sont peu nombreux les jours qui suivent l'œstrus mais restent présents pendant tout le cycle chez la brebis. D'autre part, Grant (1933) avait signalé des modifications histologiques similaires dans la muqueuse vaginale pendant l'anoestrus et la gestation, Les résultats qu'on a obtenus lors de l'observation microscopique chez les ovins et

les caprins montre il y a des frottis qui présente la dominance totale des polynucléaires. (Caprin 6).

En effet, chez les brebis Lafi et al. (1997) ont signalé un nombre modéré, cellules parabasales, cellules intermédiaires et superficielles les cellules pendant la puerpéralité (brebis 9), pendant la même période chez la chèvre un manque de cellules parabasales, avec un nombre modéré de petites des cellules intermédiaires, superficielles et cornifiées ont été observées (caprin 2).

Au vu de ce qu'ont révélé les résultats de notre étude il est de mise de noter que ce travail est d'un apport non négligeable pour l'enrichissement des connaissances sur le comportement de l'épithélium vaginal suivant l'état physiologique et peut être aussi un moyen de diagnostic rapide et peu couteux des infections génitales en général. Chez les petits ruminants et il convient de signaler que ce travail peut être repris en multipliant le nombre d'échantillons et aussi de faire une étude chez d'autres espèces.

## Conclusion

L'utilisation du frottis vaginal est une méthode pratique, basée sur le principe de base de la sensibilité de l'épithélium vaginal à la stimulation par les hormones sexuelles auquel il répond en modifiant sa hauteur (nombre de cellules couches) et l'épaisseur (nombre de rangées de cellules par couche

L'étude cytologique de l'appareil génital est souvent utilisé pour évaluer les paramètres de reproduction chez l'être humain et les animaux domestiques, pour le diagnostic des endométrites et les maladies inflammatoires.

En l'occurrence, ce travail vise à analyser les variations de la cytologie vaginale chez les petits ruminants (ovin et caprin) suivant des stades physiologiques différents.

Ainsi, L'observation microscopique des différents frottis réalisés a permis de détecter une diversité de types cellulaires variant du type parabasal, superficiel, intermédiaire aux cellules polynucléaires.

Les résultats obtenus révèlent la dominance de cellules parabasales et la prédominance des cellules intermédiaires avec la présence de quelques neutrophiles chez les caprins étudiés (1 et 5) ; d'un autre coté l'observation microscopique montre aussi que chez l'espèce ovine (brebis 1 et brebis 4), la présence d'un grand nombre de cellules intermédiaires et de PNN par rapport aux cellules parabasales.

Au terme de cette étude nous pouvons dire que ce travail est une contribution à l'étude du comportement du tissu vaginal chez les petits ruminants et permet d'enrichir les connaissances sur la cytologie de l'appareil génital femelle et son comportement vis-à-vis des stades physiologiques. Enfin il serait judicieux que ce travail soit élargi en étudiant d'une manière comparative l'épithélium vaginal chez d'autres espèces.



## Références bibliographiques :

### A

Abdoul w.1989 .Etude des caracteristiques du cycle sexuel chez les brebis Sénégalaises de races Djallonke, Touabire et Peul \*Peulh par radio-immunos dosage de la progesterone, thèse de doctorat vétérinaire, UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP· DAKAR

Anne.L.2005,Interet de l'Interpretation des frottisvaginaux chez la chienne en debut deproestrus lors du suivi de chaleurs: Etudeexpérimentale. thèse pour le doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'ALFORT.

Aughey E et Frye Fredric L. 2001. Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates.MANSON Publishing Ltd. London.183-214.

### B

BARONE R.1978. Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 4, Splanchnologie, Fascicule 2, Editions VIGOT, 952p.

Barone R.1978. Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome3. Splanchnologie II. Appareil uro-génital. Foetus et annexes. Péritoine et Topographie abdominale. Laboratoire d'anatomie Ecole national vétérinaire Lyon.

Blazquez N.B., Batten E.H., Long S.E., G.C. Perry G.C., Whelehan O.J., 1989. A quantitative Morphological study of the bovine vaginal epithelium during the oestrus cycle.Comparative Pathology ; 100 (2): 187-193.

### C

Cole HH, Miller RF (1935). Changes in the reproductive organs of the ewe with some data bearing on their control. Am. J. Anat. 57: 37-39.

Concannon et Digregorio.1987. Canine vaginal cytology. In Burke editor.Small animal reproduction and infertility. Philadelphia : Lea&Febiger. 96-111.

### D

Datry.A ,Lecso.G, Richard-Lenoble.D et Kombila.M 1989. Coloration rapide des Plasmodies et des microfilaires par les colorants solubles dans l'eau, Med. Trop., vol 42,n°6, nov-déc 1982, p. 673-675.

### F

Feldman et Nelson.1996 Ovarian cycle and vaginal cytology. In : Canine and feline Endocrinology and reproduction. 2nd ed. Philadelphia : WB Saunders, 526-546.

### G

Gilbert .b et al .1995.reproduction des mammifères d'élevage.les éditions faucher, paris, 260 p.

GILBERT B.2005.Reproduction des animaux d'élevage, 2ème édition.Educagri éditions, 406p.

Goodman, R. L., 1994. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: N. J. Knobil E, (Ed.), The physiology of reproduction. Raven Press, New York; 659-709.

Goodman, R. L., Inskeep, E. I., 2006. Neuroendocrine Control of The Ovarian Cycle of the Sheep. In: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, Third Edition (Neill JD, ed), Elsevier, Amsterdam. 2389-2447.

Guyant. L. 1988. Canine vaginal cytology. Vet. Tech., **9**, 513-523.

## **J**

Johnston, Olson et Root Kustritz .2001 .Vaginal cytology.In : Canine and feline theriogenology. Philadelphia : WB Saunders, 32-41.

## **L**

Lafi SQ, Khamas WA, Hailat AM, Darraji AI, MA Fathalla (1997) Vaginal cytology in small ruminants. Indian Vet. J. 74: 662-665

## **M**

Miroud K etNoakes DE. 2006. Histological changes in the vaginal mucosa of the cow during the oestrous cycle, after ovariectomy and following exogenous oestradiol benzoate and progesterone treatment. Br Vet J; 147(5):469-477.

## **N**

Neveux. M. 1999. Les frottis vaginaux chez la chienne. Point Vet., **30**, 557-564.

## **O**

Olson, Bowen, Behrendt, Olson etNett .1984. Concentrations of testosterone in canine serum during late anestrus, proestrus, estrus, and early diestrus. Am. J. Vet. Res., **45** (1), 145-148.

Olson, Bowen, Behrendt, Olson etNett .1984. Concentrations of progesterone and luteinizing hormone in the serum of diestrus bitches before and after hysterectomy. Am. J. Vet. Res., **45** (1), 149-153

## **P**

Papanicolaou.GN.1942. A new procedure for staining vaginal smears. Science, **95**, 438-439.

Simmons.1970. The vaginal smear and its practical application . Vet. Med. [small An. Clin.], **59**, 369-373.

## **R**

Rao RP, Sreeraman PK, RammohanRao A (1979).A note in utility of vaginal cytology in detecting oestrus cycle and certain reproductive disorders in bovines. Indian J. Anim. Sci. 49: 391-395.

Robson JM (1947). Recent advances in sex and Reproductive Physiology. 3rd Ed. (Churchill:

London).

## S

Sanger VL, Engle PS, Bell OS (1958). The vaginal cytology of ewes during the oestrus cycle. *Am. J. Vet. Res.* 19: 283-287.

Stevens A et Low J., 2006. *Histologie humaine*. 3e édition, human histologie, 370,371.

## T

Thibault C et Levasseur M-C.; 2001. *La Reproduction chez les mammifères et l'homme*. Paris. INRA Ellipses. 928, 928.

Thimonier, J, Cognie Y., Lassoued N., Khaldi G., 2000. L'effet mâle chez les ovins : une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. *INRA Prod. Anim* ; 13 (4) : 223-231.

## W

Wheater P, Young B, Heat J W., 2001. *Histologie fonctionnelle*. 4e édition de boeck. 359.

Wright et Parry .1989. Cytology of the canine reproductive system. *Vet. Clin. North Am. [Small Anim. Pract.]* ,19 (5), 851-874.

## Z

Zohara BF, Azizunnesa, Islam MF, Alam GS, Bari FY (2014). Exfoliative vaginal cytology and serum progesterone during the estrous cycle of indigenous ewes in Bangladesh. *J. Embryo Trans.* 29(2): 183-188.