



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

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 agronomiques
Spécialité : Production animale

Présenté par :

KHENNOUCHE Sarah Amina
LAIDI Meriem

Thème

Etude des variations structurales de l'épithélium vaginal en fonction des stades physiologiques chez la vache.

Soutenu publiquement le : 11/10/202

Jury :		Grade
Présidente :	M^{me}.MAKHOULFI C.	MCA
Encadrant :	M.ACHIR.M	MCB
Co-encadrant :	M.BENAISSA.T	MAA
Examineur 1 :	M. HEMIDA.H	MCA
Examineur 2 :	M.TADJ.A.	MAA
Invité :	M.TAIBI	

Année universitaire 2019-2020

Résumé

Les études cytologiques sont largement pratiquées et s'avèrent un moyen fiable de diagnostic chez les femelles de plusieurs espèces. L'étude de l'épithélium vaginal est un moyen simple et efficace pour le suivi et le contrôle de l'état physiologique des vaches, cette technique se propose d'étudier le comportement de l'épithélium vaginal des vaches se trouvant dans différents stades physiologiques et pour chacune d'elle un frottis vaginal a été réalisé. Dans ce sens, les résultats obtenus suite aux constats faits sur des vaches gestantes ont révélé la dominance des cellules parabasales suivies des cellules intermédiaires tout en notant la présence des cellules superficielles et de quelques neutrophiles. D'autre part, en ce qui s'agit des frottis des vaches en œstrus tardif, on aura relevé la prédominance des cellules superficielles par rapport aux deux autres types de cellules. Tandis que le frottis du début d'œstrus laisse dégager la suprématie des intermédiaires comparativement aux superficielles.

Cependant, les frottis des vaches en *post partum* signalent une simultanéité d'une augmentation des parabasales et une diminution des intermédiaires sans omettre de noter l'absence des superficielles. La cytologie vaginale peut être un moyen non négligeable pour le diagnostic, le contrôle et le suivi des événements physiologiques chez la vache.

Mots clés : Cytologie vache épithélium vaginal stade physiologique

تمارس الدراسات الخلوية على نطاق واسع وقد أثبتت أنها وسيلة موثوقة للتشخيص في إناث العديد من الأنواع الحيوانية تعتبر دراسة النسيج الظاهري المهبلية طريقة بسيطة وفعالة لرصد وضبط الحالة الفسيولوجية للأبقار. تهدف هذه التقنية إلى دراسة تركيب النسيج الظاهري المهبلية للأبقار في مراحل فسيولوجية مختلفة بحيث تم أخذ عينة خلوية من النسيج الظاهري المهبلية من كل بقرة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بعد المعاينات التي تم التوصل إليها على الأبقار الحامل سيطرة الخلايا القاعدية تليها الخلايا الوسيطة مع ملاحظة وجود خلايا سطحية وعدد قليل من متعددة النواة من ناحية أخرى ، الفحص المجهرية للعينات الخلوية للنسيج الـ المهبلية للأبقار في المرحلة الأخيرة من الشبق. ، يكشف لنا هيمنة الخلايا السطحية على النوعين الآخرين من الخلايا. بينما تكشف عينة تفوق الخلايا الوسيطة مقارنة بالخلايا السطحية. أما بالنسبة لعينات أبقار ما بعد الولادة تشير إلى تزامن زيادة الخلايا القاعدية و انخفاض الخلايا الوسيطة مع ملاحظة انعدام الخلايا السطحية. يمكن أن يكون علم الخلايا المهبلية أداة مهمة لتشخيص ومراقبة ورصد المراحل الفزيولوجية في الأبقار.

المفتاحية : المرحلة الفسيولوجية، البقرة ، علم الخلايا، النسيج

Abstract

Cytological studies are widely practiced and have proven to be a reliable means of diagnosis in females of several species. The study of the vaginal epithelium is a simple and efficient way to monitor and control the physiological state of cows, this technique aims to study the behavior of the vaginal epithelium of cows in different physiological stages and for each of them a vaginal smear was performed. In this sense, the results obtained following the findings made on pregnant cows revealed the dominance of parabasal cells followed by intermediate cells while noting the presence of superficial cells and a few neutrophils. On the other hand, regarding the smears of cows in late estrus, we have noted the predominance of superficial cells over the other two types of cells. While the smear of the beginning of estrus reveals the supremacy of intermediates compared to superficial ones. However, smears from postpartum cows indicate a simultaneity of an increase in parabasal and a decrease in intermediates without forgetting to note the absence of superficial ones. Vaginal cytology is a significant tool for the diagnosis, control and monitoring of physiological events in cows.

Keywords : cytology ; cow ; vaginal epithelium ; physiological stage

Remerciements

Nos vifs remerciements s'adressent aux membres de l'honorable jury qui ont accepté d'évaluer ce travail : Mme MAKHLOUFI, M. HEMIDA, M. TADJ et M. BENAÏSSA.

Un remerciement particulier s'adresse cordialement à notre cher encadrant Monsieur ACHIR M pour ses conseils avisés, ses orientations judicieuses et sa disponibilité par les quels il nous a scientifiquement et humainement gratifié.

Nos remerciements et notre gratitude les plus profondément dévoués que nous destinons à Dr HEMIDA H, pour tout ce qu'il a montré comme empathie et pour tout ce par quoi il nous privilégié comme assistance et surtout pour sa générosité tant sur le plan scientifique qu'humain.

Notre gratitude vise à vis de tous nos chers enseignants qui se sont acquittés de la noble et lourde tâche de notre éducation scolaire et cursus universitaire sans qui, nous n'en serions pas à ce stade.

On ne peut omettre d'exprimer nos sincères remerciements à Dr Gouichich T pour sa précieuse et constructive aide le long de l'élaboration du volet expérimental de notre recherche ;ainsiqu'à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration et à la finalisation de notre recherche.

Dédicace

On remercie le dieu le tout-puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce travail.

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon bien-être.

Ce modeste travail soit le fruit de vos innombrables sacrifices, je vous remercie pour tout le soutien et l'amour.

A mes chers frères et sœurs en témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance je vous souhaite une vie pleine et de succès et que dieu le tout-puissant vous protège et garde.

A mes neveux et nièces, puisse dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

A mes amis, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble,

Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Meriem

DÉDICACE

À MA TRÈS CHÈRE MÈRE : HENNIA

LA LUMIÈRE DE MES JOURS, LE SOLEIL QUI NE S'ARRÊTE JAMAIS DE BRILLER, LA SOURCE DE MES EFFORTS, LA FLEMME DE MON CŒUR. TU M'AS TOUJOURS PROCURÉ DE LA DOUCEUR ET DE L'AMOUR, AUCUNE DÉDICACE NE SAURAIT ÊTRE ASSEZ ÉLOQUENTE POUR EXPRIMER CE QUE TU MÉRITES, TU M'AS AIDÉ À FRANCHIR LE SEUIL DE MON SUCCÈS ET CE, EN SACRIFIANT UNE BONNE PARTIE DE TA VIE. TU ES UNE MERVEILLEUSE MÈRE, UNE FEMME COMME TOI, ELLE NE SE REMPLACE PAS ! JE T'AIME MAMAN.

MON FRÈRE BACHIR ET SŒUR CHAHRA

MERCI D'AVOIR ÉTÉ TOUJOURS LÀ POUR MOI, VOUS M'AVEZ SOUTENU, RÉCONFORTÉ ET ENCOURAGÉ, LES MOTS NE SUFFISENT GUÈRE POUR EXPRIMER L'AMOUR QUE JE MAINTIEN POUR VOUS, JE VOUS SOUHAINTE TOUT LE BONHEUR ET LA RÉUSSITE. QUE DIEU VOUS GARDE

À MES FRÈRERAFIK, WAHID ET ROMAÏSSA

MALGRÉ LA DISTANCE, VOUS ÊTES TOUJOURS DANS MON CŒUR. JE VOUS AIME

À MA CHÈRE AMIE ET SŒUR MERIEM

MON BINÔME, DEPUIS TOUTES CES ANNÉES, TU ES LA SEULE CONSTANCE DANS MA VIE, JE TE REMERCIE POUR TON AMITIÉ CHÈRE À MON CŒUR

AUX PERSONNES QUI M'ONT TOUJOURS AIDÉ ET ENCOURAGÉ, QUI ÉTAIENT TOUJOURS À MES CÔTÉS, MA FAMILLES ET MES AMIES, MERCI D'ÊTRE TOUJOURS LÀ POUR MOI.

SARAH

Liste des abréviations

AMH.	Anti Mullerian Hormone
EA.	Éosine Alcool
FSH.	Hormone folliculo-stimulante
HCL.	Acide chlorhydrique
LCR.	Liquide céphalo-rachidien
LH.	Hormone lutéinisante
MGG.	May-GrünwaldGiemsa
MTB.	Montbeillard
OG.	Orange G
PRH.	Prim'Holstein

Liste des figures

Figure 1. Structure histologique du vagin	11
Figure 2. Coupe histologique du vagin	12
Figure 3. Comparaison du diamètre cytoplasmique et du diamètre du noyau	14
Figure 4. Localisation géographique du lieu de l'étude	16
Figure 5. Cytobrosse pour cytologie vaginale des bovins.....	17
Figure 6. Technique de prélèvement cytologique (frottis vaginal)	18
Figure 7. Protocole expérimental.	19
Figure 8. Photomicrographes des frottis vaginaux F1, F9 et F13	20
Figure 9. Photomicrographes des frottis vaginaux F4 et F14.....	21
Figure 10. Photomicrographes des frottis vaginaux F2 et 07.....	21
Figure 11. Photomicrographes des frottis vaginaux F5 et F12.....	22
Figure 12. Photomicrographes des frottis vaginaux F8 et F10.....	23
Figure 13. Photomicrographe du frotti vaginal F3	23
Figure 14. Photomicrographe du frotti vaginal F6.....	24
Figure 15. Photomicrographe du frotti vaginal F11	25
Figure 16. Photomicrographe du frotti vaginal F15	26
Figure 17. Photomicrographe du frotti vaginal F16.....	26
Figure 18. Photomicrographes des frottis vaginaux F17 et F18.....	27

Liste des tableaux

Tableau 1.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis : F1, F9 et F13	20
Tableau 2.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis : F4 et F14	21
Tableau 3.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis F2 et F7	22
Tableau 4.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis F5 et F12	22
Tableau 5.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis F8 et F10	23
Tableau 6.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales du frottis F3	24
Tableau 7.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales du frottis F6	24
Tableau 8.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales du frottis F11	25
Tableau 9.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales du frottis F15	26
Tableau 10.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales du frottis F16	27
Tableau 11.	Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis F17 et F18	27

Liste des Annexes

Annexe 1. Technique de prélèvement des frottis vaginaux.....	40
---	----

Table des matières

Liste des abréviations	i
Liste des figures	ii
Liste des tableaux.....	iii
Liste des annexes.....	iv

Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 1. Anatomie, physiologie et pathologie de l'appareil génital.....	3
1.1 Anatomie de l'appareil génital de la vache	
1.1.1 Notions générales :	3
1.1.2 Constituants de l'appareil reproducteur de la vache	3
1.2 Physiologie de l'activité sexuelle de la vache :	5
1.2.1 Notions générales :	5
1.2.2 Activité sexuelle :	5
1.2.3 Mécanismes hormonaux du cycle sexuel :	7
1.3 Anomalies pathologiques ou structurales de l'appareil génital	7
1.3.1 Endométrite	8
1.3.2 Kystes ovariens	8
1.3.3 Mortalité embryonnaire.....	8
1.3.4 Métrites.....	9
1.3.5 Free martinisme :.....	9
1.3.6 Anomalies ovariennes :	9
1.3.7 Anomalies du tractus génital de la vache :	10
2 Chapitre 2. Etude histologique et cytologique de la muqueuse vaginale de la vache	
2.1 Histologie du vagin.....	11
2.1.1 Séreuse et adventice :	11
2.1.2 Muqueuse :	11
2.1.3 Musculeuse :	12
2.2 Cytologie du vagin :	13
2.2.1 Cellules basales :	13
2.2.2 Cellules Parabasales :	13
2.2.3 Cellules intermédiaires :	13

2.2.4	Cellules superficielles :	13
2.2.5	Cellules de cornification :	14
2.3	Techniques de coloration de l'épithélium vaginal de la vache :	14
2.3.1	Coloration de « Papanicolaou » :	15
2.3.2	<i>May Grunwald Giemsa</i> (MGG) :	15
2.3.3	Coloration de Ral 555:	16
2.3.4	Coloration <i>RAL Diff-Quik</i> :	16

Partie expérimentale

1	Matériel et méthodes	16
1.1	Zone d'étude	16
1.2	Matériel biologique.....	16
1.3	Méthodologie.....	17
1.3.1	Réalisation des frottis	17
1.3.2	Coloration et lecture	18
1.4	Résultats	20
1.4.1	Cytologie des frottis : F1, F9 et F13 (Groupe 1).....	20
1.4.2	Cytologie des frottis des frottis : F4 et F14 (Groupe 2)	21
1.4.3	Cytologie des frottis : F2 et 07(Groupe 3)	21
1.4.4	Cytologie des frottis : F5 et F12(Groupe 4)	22
1.4.5	Cytologie des frottis F8 etF10 (Groupe 5)	23
1.4.6	Cytologie du frottis F3 (Groupe 6).....	23
1.4.7	Cytologie du frottis F6 (Groupe 7).....	24
1.4.8	Cytologie du frottis F11 (Groupe 8).....	25
1.4.9	Cytologie du frottis F15 (Groupe 9).....	26
1.4.10	Cytologie du frottis F16 (Groupe10).....	26
1.4.11	Cytologie des frottis F17 et F18 (Groupe 11)	27
	Discussion	30
	Conclusion	33

Références bibliographiques

Introduction

L'objectif principal de tout élevage de bovin laitier est de maximiser sa rentabilité économique, cela ne peut se réaliser qu'en présence d'une bonne maîtrise de la reproduction. En l'occurrence, la mauvaise détection des vaches en chaleur, l'insémination tardive ou précoce, la fréquence des infections génitales et leur mauvais diagnostic, ainsi qu'un mauvais suivi de la gestation réduisent la fertilité, la production laitière a des conséquences néfastes sur la santé de l'animal. Tous ces facteurs ont un impact économique majeur, il est estimé à 1,4 milliards d'euros par an en Europe et 650 millions de dollars aux Etats Unis (**Sheldon et al. 2006**). En Algérie et en absence de données les pertes économiques peuvent être vraisemblablement plus importantes.

Pour minimiser ces pertes, un suivi rigoureux et régulier de la reproduction du troupeau laitier s'avère indispensable. A cet effet, l'échographie, la palpation transrectale, les méthodes hormonales et les analyses bactériologiques sont fréquemment utilisées pour suivre le statut reproductif des femelles reproductrices. Cependant ces méthodes présentent l'inconvénient d'être onéreuses et exigent une technicité et un savoir-faire pour suivre l'état physiologique des vaches.

Pour pallier à ces contraintes, de nouvelles approches diagnostiques basées sur les études cytologiques vaginales sont largement pratiquées et s'avèrent un moyen fiable de diagnostic chez les femelles de plusieurs espèces (**Hoshi et al. 2013**). Dans ce sens la cytologie vaginale est utilisée pour déterminer les phases du cycle œstral (**Cole et Miller, 1935 ; Sanger et al., 1958 ; Kraznicakova et al., 1992 ; Marondes et al.2002**). On recourt aussi à cette méthode pour diagnostiquer la gestation. (**Hussain et al. 1979**) ; elle est également utilisée pour détecter diverses pathologies et troubles gynécologiques chez la femelle (**Schutte, 1967**), et les anomalies du *post-partum*. (**Rao RP., 1997**).

De ce fait, l'étude cytologique de l'épithélium vaginal, s'avère un moyen simple et efficient pour le suivi et le contrôle de l'état physiologique des vaches et peut orienter l'opérateur à opter pour la mise en œuvre d'un plan d'action protocole pour chaque cas.

L'objectif de ce travail est de déterminer et connaître le comportement des cellules épithéliales vaginales chez des vaches reproductrices dont on connaît préalablement pour chacune le stade physiologique. Pour ce faire, des frottis vaginaux ont été réalisés, après fixation, coloration et observation microscopique, on a procédé à la lecture des résultats observés et enfin à leur interprétation. Le présent mémoire est réparti en deux parties :

- Une première qui fait une synthèse bibliographique sur les concepts clés de la physiologie et des spécificités de la cytologie ;
- Une seconde qui aborde le volet expérimental ayant trait aux observations microscopiques

Synthèse bibliographique

1 Anatomie, physiologie et pathologie de l'appareil génitale

1.1 Anatomie de l'appareil génital de la vache

1.1.1 Notions générales :

Comparé à l'appareil reproducteur mâle, la fonction principale de celui de la femelle étant plus complexe, il ne se limite pas à l'élaboration de gamètes femelles et à leur cheminement. En effet, c'est dans le tractus génital féminin que : Le sperme du 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 (**Foisseau., 2013**).

1.1.2 Constituants de l'appareil reproducteur de la vache :

L'élaboration des gamètes femelles et la synthèse d'hormones femelles étant la double fonction des ovaires; Des voies génitales : l'oviducte, lieu de fécondation, l'utérus, organe de gestation, le vagin et la vulve, organes d'accouplement (**Foisseau., 2013**).

1.1.2.1 Ovaires :

Les ovaires sont toujours plus petits ou moins lourds que les testicules, étant plus ou moins en arrière des reins dans la cavité abdominale, près de l'entrée du bassin de formes ellipsoïde ou ovoïde (**Enseignement agricole., 1995**). Ils ont une taille de 1 à 5 cm (**Bonnand., 2013**). C'est un lieu de formation des follicules, contenant les ovocytes, et du corps jaune (**Bonnand., 2013**).

a. Fonctions des ovaires

Servant à la production d'un ovule mur tous les 21j lorsque la vache a un cycle œstral normal, les ovaires secrètent des hormones ayant pour fonction fondamentale de contrôler la maturation des ovules, de déclenchement des chaleurs, et de la préparation du système reproducteur en cas de gestation (**Barone., 1978**).

b. Follicules :

Prenant généralement la forme de vésicules sphériques, les follicules sont à contenu liquidien, ils présentent une paroi mince et affleurant le plus souvent légèrement en surface de l'ovaire. Une structure lisse, tendue et dépressible est perçue à la palpation, la surface ovarienne

étant généralement peu déformée par les follicules. Le diamètre des follicules dominants pré ovulatoires ou non varie de 1 à 2, voire 2.5 cm (**Descôteaux & Vaillancourt., 2012**).

c. Corps jaune :

L'identification d'une activité lutéale constitue l'élément essentiel pour affirmer que la vache est cyclée. Durant les six premiers jours postérieurs à l'œstrus, on notera la mollesse de la consistance du corps jaune, dont le diamètre augmente progressivement, plus ou moins crépitant à la palpation lors de l'évolution des caractéristiques lutéales (**Bonnand., 2013**).

1.1.1.1 Oviductes : (trompes utérines)

Bonnand 2013, évoque la distinction entre les deux conduits fin et flexueux de 20 à 30 cm de long. Les oviductes étant formés de l'isthme, partie la plus étroite ; l'ampoule, lieu de fécondation et le pavillon, ouvert en regard de l'ovaire qu'il tend à envelopper (**Bonnand., 2013**). En outre, l'étude d'Ellington publiée en 1991, la diminution de la taille de sa lumière en allant de l'ovaire à l'utérus. La paroi est composée d'une muqueuse, d'une musculuse et d'une séreuse (**Bonnand., 2013**).

1.1.1.2 Utérus :

L'utérus chez la vache est bicornué (**Descôteaux, Vaillancourt., 2012**), étant le lieu de l'implantation de l'embryon puis de gestation, nous en distinguons les trois parties :

- Le col utérin ou cervix, long et étroit (5 à 10cm de longueur et 2.5 à 5cm de diamètre), à paroi ferme et épaisse débute dans le vagin (fleur épanouie). Il présente une muqueuse plissée formant généralement 3 anneaux, avec au centre le canal cervical ;
- Le corps utérin court (2 à 3 cm de long) s'ouvre sur les 2 cornes utérines ;
- Les cornes utérines (25 à 40cm de long) sont plus ou moins recourbés et présentent un diamètre qui diminue progressivement de la base (2.5 à 4cm) à la jonction utéro-tubaire (5 à 6mm) (**Bonnand., 2013**).

1.1.1.3 Vagin :

D'une longueur de 30 cm et situé caudalement au col, le vagin est un organe souple et dilatable, (**Descôteaux, Vaillancourt., 2012**). Prenant la forme d'un conduit cylindrique ouvert extérieurement par l'orifice de la vulve, il est le lieu de la copulation (**Bonnand., 2013**).

1.1.1.4 Vulve :

Connue comme étant commune à l'appareil urinaire et génital, elle est composée du vestibule vaginal et de l'orifice vulvaire qui est délimité par les lèvres (**Foisseau, 2013**).

1.2 Physiologie de l'activité sexuelle de la vache :

1.2.1 Notions générales :

L'intégralité des phases de la reproduction, est abordée par la physiologie de la reproduction: la gamétogenèse, la fécondation, la gestation, la mise bas, la lactation et le tarissement. Tout le processus de la reproduction demeure sous le contrôle du système neuro-hormonal.

1.2.2 Activité sexuelle :

Selon Barret (2011), la notion de cyclicité étant le qualificatif le mieux approprié, cette activité est une succession d'opérations en perpétuel renouvellement identiquement dans des circonstances données à des intervalles considérablement constants et adaptés à chaque espèce. La cyclicité étant continue chez la vache et apparaissant à la puberté, elle est dépendante des déterminants facteurs que sont : l'allaitement, la photopériode, la sous-alimentation, etc. (**Barret ; 2011**).

1.2.2.1 Comportement et cycles sexuels chez la vache :

En absence de gestation, l'activité de la vache reste continue avec spontanéité d'ovulation et avec des intervalles réguliers de vingt et un jours d'œstrus. D'où la nécessité de la connaissance de ses phases physiologiques (**Derradji., 2015**).

L'activité sexuelle étant composée des deux cycles : ovarien et oestrien chez la vache laitière, dont la cyclicité peut être définie par une succession de modification ayant lieu au niveau de l'ovaire et des voies génitales, et s'opérant d'un premier œstrus jusqu'au début du suivant (**Batellier et al., 2011**).

a) Cycle ovarien :

On en distingue deux phases :

- **Phase folliculaire** : d'une durée de quatre jours, elle se caractérise par la lutéolyse ou destruction du corps jaune, et un taux élevée d'œstrogènes.
- **Phase lutéale** : d'une durée de dix-sept jours, elle consiste fondamentalement en une augmentation du taux de progestérone accompagné d'une transformation d'un follicule tertiaire en follicule cavitaire. On notera aussi que durant cette phase, l'ovulation et la formation du corps jaune ont lieu (**Cauty et Perreau, 2009**).

b) Cycle œstral :

Il se divise en 4 parties :

- Ñ **Œstrus** : étant le premier jour du cycle, il est indéniablement le marqueur fondamental du début de cycle ou des vraies chaleurs et donc la période propice de réceptivité sexuelle de la vache (Wattiaux, 1996). Durant de six à dix-huit heures. Quant à l'ovulation, elle se manifeste douze heures après la fin des chaleurs (**Foisseau et al, 2013**).
- Ñ **Metoestrus** : (J1 à J3) : connu comme étant la deuxième phase, le follicule de De Graaf y accomplit sa maturation, suivi d'une ovulation commençant de dix à douze heures après cette période, ce follicule finit par pondre l'ovocyte qui se transforme en corps jaune, qui produit la progestérone servant à préparer l'utérus à recevoir un probable fœtus, et ce après avoir atteint sa taille maximum après huit à dix-huit jours (**Giroud, 2007**).
- Ñ **Di-œstrus** (J4 à J18) : étant caractérisé par la présence d'un ou de plusieurs corps jaunes, en absence de fécondation, le corps jaune diminue de taille, d'où le retour des animaux en proœstrus, témoignant ainsi le début d'un nouveau cycle (**Giroud, 2007**).
- Ñ **Le proœstrus** (J19 à J21) : La chute du taux de progestérone et la production maximale d'œstrogène sont à la source de la préparation de l'œstrus, cette phase se fait durant dix heures marquant ainsi l'apparition d'un follicule dominant destiné à se transformer en follicule de DeGraaf au cours de l'œstrus (**Bruyere, 2009**).

c) Signes de l'œstrus :

On distingue deux périodes :

- Outre le fait que la vulve laisse échapper du mucus visqueux en humidifiant les lèvres, la vache peut manifester des signes de nervosité, en se rapprochant de ses congénères, annonçant ainsi une période de pré-chaleurs appelée aussi proœstrus
- Le refus de l'animal d'être monté en manifestant une accalmie la vulve se décongestionne, tout en notant un arrêt de l'étirement du mucus redevenant plus épais.

Provenant d'un relâchement de l'utérus, des pertes sanguines de volumes différents selon l'animal, peuvent se manifester pour donner lieu à des constats permettant de juger de la phase de chaleur, selon qu'il s'agisse d'œstrus ou non, tout en s'informant sur l'état de gestation.

Quant à l'insémination artificielle, elle se fait par le biais de l'observation attentive des signes et donc des marqueurs évoqués ci-avant (**Foisseau., 2013**).

1.2.3 Mécanismes hormonaux du cycle sexuel :

1.2.3.1 Contrôle hormonal :

La complexité de la physiologie du cycle sexuel réside dans le fait qu'elle sollicite l'intervention des deux éléments fondamentaux que sont le système nerveux central (axe hypothalamo-hypophysaire) et l'appareil génital (ovaires et utérus).

La régression du corps jaune à la fin du cycle (du quinzième au dix-neuvième jour du cycle), donne lieu à un rétrocontrôle négatif exercé par la progestérone sur l'axe hypothalamo-hypophysaire (**Meredith., 1995**)

La stimulation de la croissance des follicules dominant jusqu'au stade pré ovulatoire se fait grâce aux gonadotrophines hypophysaire (FSH et LH), en plus d'une sécrétion de quantités croissantes d'œstradiol dont un taux élevé obtenu en deux ou trois jours génère une décharge considérable de FSH et LH ce dernier est instigateur(**Meredith., 1995**).

La LH et la prolactine ayant une influence trophique sur le développement du corps jaune nouvellement formé qui secrète à la fois de la progestérone et de l'œstradiol ; tous les deux à l'origine d'un rétrocontrôle négatif se manifestant au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Ce processus induit une inhibition d'une hypothétique sécrétion pré ovulatoire des gonadotrophines d'où l'émergence d'une nouvelle vague folliculaire (**Meredith., 1995**).

La régression graduelle de la progestéronémie est la conséquence de l'effet lutéolytique de la prostaglandine F₂ utérine, elle-même synthétisée par l'œstradiol qui sera ensuite libérée sous l'action de l'ocytocine lutéale et ce après le dixième jour du cycle (**Meredith., 1995**).

1.2.3.2 Régulation de la sécrétion de GnRH

La GnRH étant l'hormone régulatrice à l'origine de la fonction reproductrice, elle est synthétisée et sécrétée par les neurones hypothalamiques, et relié aux récepteurs spécifiques se trouvant au niveau des cellules gonadotropes de l'antéhypophyse. D'où l'obtention d'une synthèse libératrice sécrétant les gonadotrophines (FSH et LH). Outre, le caractère dominant du follicule mur sur lequel agit la LH provoquant la maturation finale et l'ovulation, la FSH a une action spécifique sur les petits follicules ovariens en vue d'en stimuler la croissance(**Fieniet al, 1995**).

1.3 Anomalies pathologiques ou structurales de l'appareil génital

En vue de mettre en exergue les disparités des anomalies qui peuvent se manifester au niveau de l'appareil génital de la vache tant sur le plan pathologique que sur le structural, nous avons jugé utile d'en proposer une synthèse non exhaustive.

1.3.1 Endométrite

Les troubles de la reproduction post-partum provoquent de lourdes pertes économiques dans le secteur laitier. Les infections utérines comprennent l'endométrite, la métrite, le mucomètre et le pyomètre. Parmi toutes ces maladies inflammatoires utérines, l'endométrite est l'un des problèmes gynécologiques majeurs affectant l'efficacité reproductive et l'économie de la production laitière chez les animaux laitiers.

L'endométrite post-partum chez les vaches laitières a été définie comme une inflammation de l'endomètre survenant 21 jours ou plus après la mise-bas sans signes systémiques de maladie (**Lewis et al 2006**). Cliniquement, il se caractérise par la présence de flocons de pus dans l'écoulement utérin (**Pillai., 2012**).

1.3.2 Kystes ovariens

Les kystes folliculaires ovariens sont des structures folliculaires anovulatoires qui ont été identifiées chez un certain nombre d'espèces de mammifères (**Elford et al., 1984**). Les vaches sont stériles tant que la condition persiste. De 5,6 à 18,8% des vaches laitières développent la condition (**Mather. et al 1986**); le pourcentage moyen se situe probablement entre 10 et 13% (**Mather et al., 1986**). Ainsi, les kystes folliculaires ovariens sont une cause importante d'infertilité et de perte économique pour les entreprises laitières(**Ferguson., 1988**).

1.3.3 Mortalité embryonnaire

La mortalité embryonnaire est un problème difficile à gérer pour les agriculteurs. L'établissement et le maintien de la grossesse est un processus très compliqué impliquant l'embryon, l'utérus et la vache. Il n'y a pas de facteur unique pouvant être manipulé qui améliorera constamment la capacité de survie embryonnaire(**Ferguson., 1988**).

Mais, en gérant la génétique, la nutrition, la parité, le stress et la santé animale, l'incidence de la perte embryonnaire peut être considérablement réduite. Les taux de fertilisation chez les bovins se situent généralement entre 90 et 100 pour cent, avec seulement 70 pour cent de toutes les fertilisations entraînant une naissance vivante. Par conséquent, 30% des fertilisations sont perdues à cause d'une forme de disparition d'embryon(**Ferguson., 1988**).

Essentiellement, cela entraîne une perte d'environ 1,4 milliard de dollars pour les éleveurs de bovins à l'échelle nationale. Cette revue portera sur certains des facteurs affectant directement ou indirectement la capacité d'un embryon à survivre dans les limites de l'environnement maternel(**Ferguson., 1988**).

1.3.4 Métrites

La métrite est une pathologie fréquente dans les troupeaux bovins laitiers ; son étiologie multifactorielle rend très difficile sa prévention. Les pertes économiques qu'elle engendre peuvent être importantes pour l'exploitation (Zidane.,2008).

Les maladies liées à la métrite comprennent la rétention du placenta, qui augmente le risque de métrite, et dystocie (Steffan, 1987; Vallet et al, 1987; Correa et al., 1993). La nutrition est considérée comme ayant un effet sur la métrite (Maree., 1986; Markusfeld, 1987; Steffan., 1987).

L'effet de l'âge animal sur la métrite est un domaine controversé. De nombreux chercheurs n'ont trouvé aucun effet de l'âge ou de la parité sur les taux de métrite (Bartlett et al, 1986; Faye et al, 1986; Steffan, 1987), tandis que certains ont constaté que la métrite augmente avec l'âge (Etherington et al., 1985; Faye et al, 1986b; Huffman et al., 1984), et d'autres ont découvert que les premières génisses étaient les plus à risque de métrite (Markusfeld., 1987).

1.3.5 Free martinisme :

Quatre-vingt-dix à 95 % des veaux femelles co-jumelles d'un veau mâle présentent une masculinisation de leur tractus génital et sont stériles. Cette pathologie est pratiquement spécifique de l'espèce bovine. Son appellation dériverait du dialecte écossais. Le terme « free » signifie stérile et le terme « martin » se rapporte sans doute au fait que les animaux stériles étaient le plus souvent abattus à la fête de la Saint Martin (11 novembre)(Hanzen., 2008).

Plusieurs hypothèses ont été proposées. La plus probable est la théorie hormonale. La différenciation des gonades se fait plus tôt chez le mâle que chez le fœtus femelle. Sous l'action de la substance inhibitrice des canaux de Mueller du veau mâle (MIS ou AMH pour AntiMullerian Hormone) et peut être, la testostérone, les canaux de Muller du veau régressent. Mais en raison de la présence d'anastomoses vasculaires entre les placentas des deux fœtus, ces substances se retrouvent dans la circulation sanguine de la femelle, où ils ont la même action. Outre les hormones, des cellules (ex. cellules germinales, globules rouges et blancs) sont également échangées entre les deux fœtus par ces anastomoses (Descôteaux., 2012).

1.3.6 Anomalies ovariennes :

- **Hypogénésie ovarienne :**

Habituellement bilatérale (mais variable en termes de sévérité comme de symétrie), se manifeste par une non fonctionnalité ovarienne (absence de corps jaunes, de follicules, surface anormalement lisse) et peut être clivée en deux entités : l'ovaire est soit petit et parcouru par des sillons longitudinaux, soit de grande taille, rond et lisse(Duval-Desnoes., 2005)

- **Agénésie (Aplasie) :**

C'est une absence totale de tissu ovarien, peut impliquer un ou les deux ovaires. L'ensemble de l'appareil reproducteur peut également être absent. Quand ils sont présents, ils sont très réduits car leur développement est incomplet. C'est une anomalie de développement, héréditaire, très souvent d'origine génétique, liée à un gène récessif qui a un rapport avec le sexe femelle, elle est occasionnellement observée chez les ruminants (**Arthur et al., 1992**).

1.3.7 Anomalies du tractus génital de la vache :

Ces anomalies, assez rares, sont probablement fortement surestimées par les éleveurs ; il est désormais certain que les processus acquis, principalement inflammatoires, ou les défauts de digestion de l'alimentation sont de très loin les principales causes d'infertilité bovine femelle.

Les agénésies totales ou segmentaires de l'oviducte (uni- ou bilatérales) sont rares, ainsi que les duplications, kystes, vésicules, etc. Les agénésies utérines sont beaucoup plus fréquentes, notamment les agénésies partielles (uterus unicornis) ou segmentaires (agénésies segmentaires dites de la « génisse blanche » chez les Shorthorn, Blanc-bleu belge, Prim'Holstein, d'origine génétique non précisée). En cas d'uterus unicornis, une corne est manquante à l'exception d'une petite partie crâniale kystique remplie de mucus (pathognomonique) parfois détectable à l'exploration transrectale de l'animal adulte (mucomètre).

Compatibles avec une gestation contrôlée, ces anomalies sont en fait responsables d'une diminution de fertilité, peut-être à cause d'une mauvaise perception par l'ovaire ipsilatéral du signal lutéolytique. Il semble donc judicieux de réformer prioritairement l'animal en cause. (**Duval-Desnoes., 2005**).

2 Etude histologique et cytologique de la muqueuse vaginale de la vache

2.1 Histologie du vagin

Le vagin est un conduit musculo-membraneux (Pellestor., 2008), dont la paroi est constituée de 3 couches d'importance inégale : la plus superficielle est polymorphe constituée par un péritoine et sa sous séreuse et une adventice, plus profondément viennent une musculuse et une muqueuse (Wheater et al., 2001).

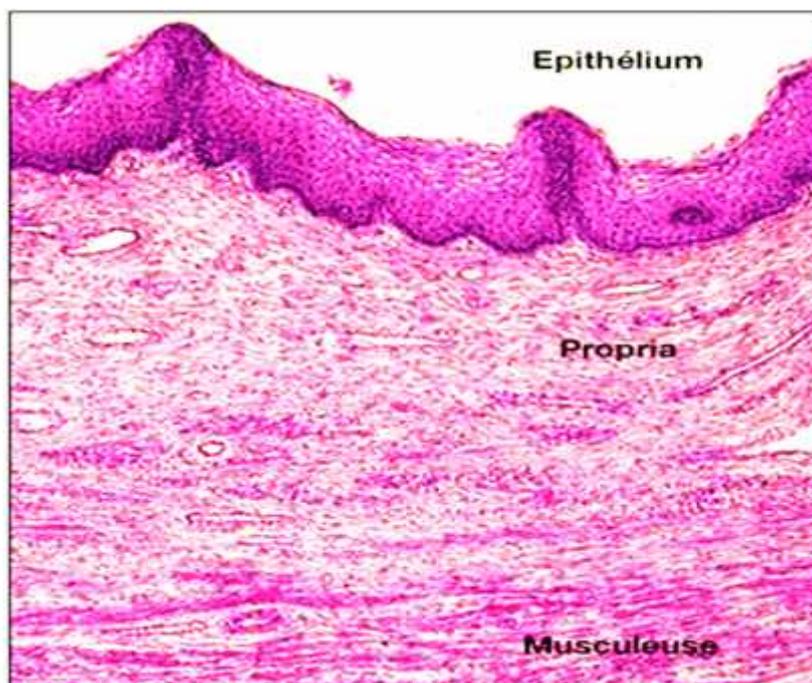


Figure 1. Structure histologique du vagin(Kühnel., 2003).

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(Wheater et al., 2001).L'adventice se confond avec le tissu conjonctif environnant (Pellestor., 2008).

2.1.2 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). Elle comporte un épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé, en conservant une assise superficielle colonnaire mêlée de quelques cellules à mucus.

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. Il est bas, formé de 3, 4 ou 5 assises cellulaires dans les périodes d'œstrus et de diœstrus. Il devient au contraire épais, avec un nombre accru d'assises cellulaires (8 à 12) lors de l'œstrus, où il desquame abondamment (Barone., 1978), et un chorion riche en fibres élastiques (Pellestor, F., 2008).

La propria est un conjonctif dense, mêlé de fibres élastiques et souvent infiltré de lymphocytes. Ces derniers s'accumulent dans la partie caudale de l'organe, pour former des lymphonodules. Sauf rares exceptions, mentionnées plus loin, on n'y rencontre aucune glande. Dans les parties les plus caudales, la propria tend à former des élevures papilliformes dans l'épithélium (Stevens et Lowe., 2006).

2.1.3 Musculeuse :

Le muscle vaginal est relativement mince, de teinte rosée (Barone ,1978), formée de vaisseaux de fibres musculaires lisses à disposition circulaire interne et longitudinale externe (Pellestor., 2008). Il est mêlé d'un conjonctif inter fasciculaire abondant, continu avec l'adventice. On y retrouve en principe la même disposition générale que dans la musculature des trompes et de l'utérus, mais il est difficile de délimiter les trois couches (Barone., 1978).

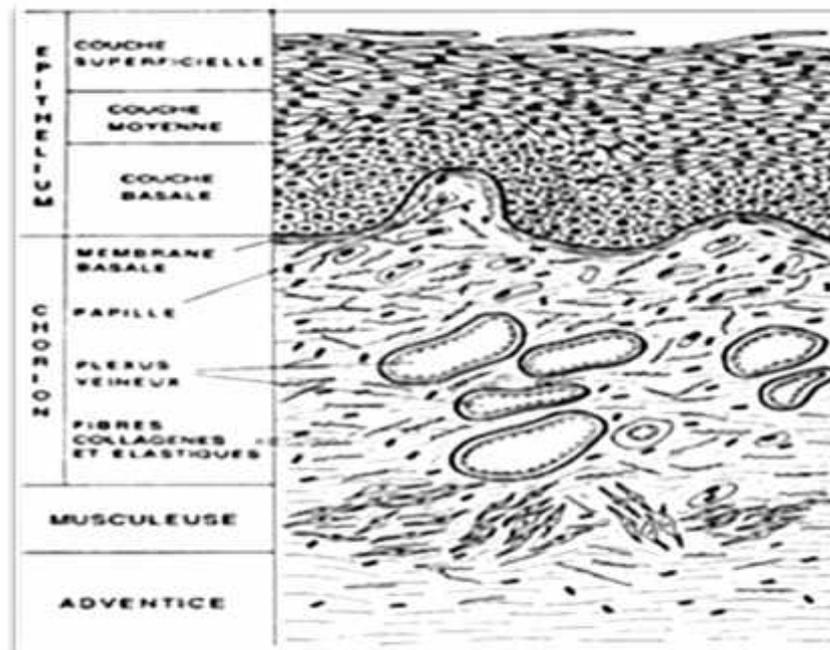


Figure 2. Coupe histologique du vagin (Pellestor., 2008).

2.2 Cytologie du vagin :

Les cellules épithéliales vaginales sont classées selon leur emplacement dans la muqueuse vaginale comme : cellules basales, parabasales, intermédiaires, superficielles, et de cornification (Mayor., 2005).

Dans certaines espèces à savoir : chiens, chats, souris et lapins chez qui les changements sont assez cohérents et peuvent être utilisés de manière fiable pour le diagnostic du stade de l'œstrus et déceler le moment optimal pour l'accouplement ou l'insémination artificielle. Cependant, chez les vaches, ces changements ne sont pas cohérents (Hansel., 1950; Rao et al., 1979).

2.2.1 Cellules basales :

Les cellules basales sont petites avec une quantité discrète de cytoplasme et un noyau hyperchromatique (Mayor et al., 2003).

2.2.2 Cellules Parabasales :

Les cellules parabasales sont des cellules épithéliales de petite taille arrondies avec noyaux, rondes ou ovales plus gros que le cytoplasme. En général, le cytoplasme des cellules parabasales est sombre, épais et basophile. Les cellules parabasales sont les plus jeunes cellules trouvées dans le cycle œstral. Ces cellules se trouvent dans le diœstrus, metoœstrus et anœstrus, mais ne sont pas fréquemment retrouvés pendant la phase œstrale (Nalley et al., 2011)

2.2.3 Cellules intermédiaires :

Ayant une diversité de formes et de tailles, les cellules intermédiaires sont le plus anciens types de cellules vaginales par rapport aux parabasales, mais elles sont plus jeunes que les cellules superficielles. Les cellules intermédiaires ont un diamètre d'environ 2-3 fois plus grand que les cellules parabasales. Elles sont divisées en deux groupes, les petites cellules intermédiaires et les grandes cellules intermédiaires :

- Les petites cellules intermédiaires ont une forme ronde ou ovale avec un noyau clair et proéminent.
- Les grandes cellules intermédiaires ont une forme polygonale avec de petits noyaux. Pendant la phase metoœstrus, les cellules intermédiaires ont un cytoplasme angulaire ou nucléé. Ces cellules intermédiaires se retrouvent généralement dans tous les cycles œstraux sauf dans la phase œstrale (Johnston et al., 2001).

2.2.4 Cellules superficielles :

Les cellules superficielles sont des cellules épithéliales qui ont la plus grande taille parmi les autres cellules épithéliales. Elles ont une forme polygonale ou irrégulière, des bords plats et

inégaux et n'ont pas de noyaux ou pycnotiques (le noyau semble petit et sombre)(**Bowen R A., 2006**). Ce type de cellules ne sont pas nucléées et subissent souvent une cornification ou une kératinisation qui servent à protéger la muqueuse vaginale de l'irritation pendant la copulation. Ces cellules superficielles peuvent être trouvées en grand nombre dans la phase œstrale alors qu'elles sont absentes dans la phase diœstrus ou celle de l'anœstrus(**Bowen R A., 2006**).

2.2.5 Cellules de cornification :

Les cellules de cornification sont le type de cellules vaginales le plus ancien par rapport aux cellules : parabasales, intermédiaires, et superficielles.

La présence de cellules de cornification se produit en raison de la concentration élevée d'œstrogènes pendant l'œstrus entraînant un épaissement de la paroi vaginale et les cellules épithéliales résultantes subissant une coagulation et un détachement de la paroi épithéliale vaginale. Les cellules de cornification peuvent être trouvées en grandes quantités dans la phase œstrale et sont absentes dans les phases : diœstrus ou anœstrus(**Busman H., 2013**).

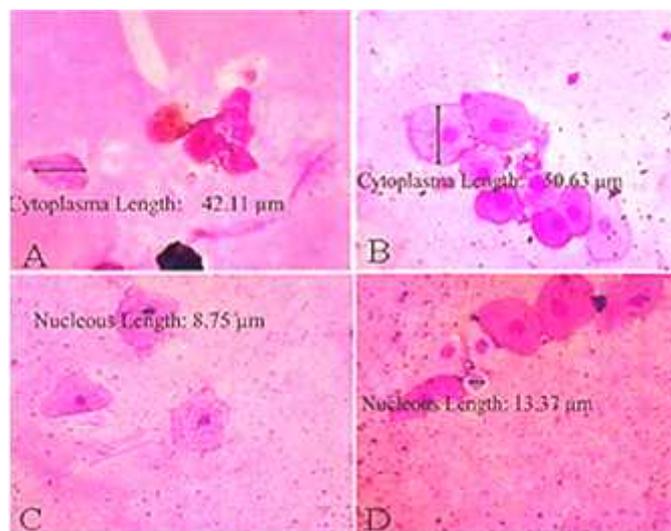


Figure 3. Comparaison du diamètre cytoplasmique et du diamètre du noyau (A: cellule de cornification; B: cellule intermédiaire; C: cellule superficielle; D: cellule parabasale) (**Busman., 2013**).

2.3 Techniques de coloration de l'épithélium vaginal de la vache :

Par égard aux spécificités du volet expérimental de notre étude, il serait judicieux de mettre l'accent sur les différentes techniques de coloration des épithéliums.

2.3.1 Coloration de « Papanicolaou » :

La coloration de « Papanicolaou » est la coloration la plus utilisée dans la pratique de la cytopathologie (Dhurba., 2020), elle est mondialement adoptée pour la coloration des spécimens cytologiques (Carbonneau., 2014).

Il s'agit d'un colorant polychromatique contenant plusieurs colorants (un colorant nucléaire – l'hématoxyline – et deux colorants cytoplasmiques – le EA (Éosine Alcool), et l'OG (Orange G)) pour colorer différemment divers composants des cellules. Cette coloration permet de distinguer la morphologie cellulaire et d'en évaluer la maturité et les activités métaboliques (Dhurba., 2020). Cette technique a été développée par George Papanicolaou, le père de la cytopathologie. Elle est utilisée pour différencier les cellules dans la préparation des frottis de divers échantillons gynécologiques (frottis de Pap) (Dhurba., 2020). En outre, la coloration nucléaire peut être progressive ou régressive :

Le choix de la méthode utilisée dépend des résultats obtenus et des préférences personnelles du pathologiste et/ou des cytologistes.

- Méthode progressive : Consiste en une coloration continue jusqu'à ce que l'intensité désirée soit obtenue ;
- Méthode régressive : Le *spécimen* est surcoloré dans l'hématoxyline, puis l'excès de colorant est retiré par immersion dans un différentiateur (0,25% HCL (acide chlorhydrique)). Une immersion sous l'eau courante stoppe ensuite la réaction chimique de décoloration (Carbonneau., 2014).

La coloration de Papanicolaou comprend à la fois des colorants acides et basiques. Le colorant acide colore les composants de base de la cellule et le colorant basique colore les composants acides de la cellule (Dhurba., 2020).

2.3.2 May Grunwald Giemsa (MGG) :

May Grunwald Giemsa (MGG) : Elle est couramment utilisée dans de nombreux laboratoires cliniques pour colorer les frottis sanguins périphériques et de moelle osseuse, les coupes de tissus et les cytologies, elle offre un excellent caractère de détail cytoplasmique (Dey., 2018) technique suit la base des colorants Romanowsky, dans lesquels les colorants acides ont une affinité sélective pour les composants cellulaires basiques et les composants acides attirent les colorants basiques. Il s'agit d'une coloration métachromatique, elle repose sur l'action combinée de deux colorants le *May Grunwald* et le *Giemsa*

2.3.3 Coloration de Ral555:

La coloration par le kit RAL 555 est une variante rapide de la coloration de *May-GrünwaldGiemsa*.

En milieu aqueux tamponné, ce produit permet:

- Une coloration différentielle des frottis sanguins (formule leucocytaire, étude morphologique érythrocytaire, recherche de parasites) et médullaires (réalisation de myélogrammes)
- La recherche de protozoaires sanguicoles et tissulaires en mycologie médicale et vétérinaire
- L'étude cytologique et structurale des coupes de tissus fixés et inclus en paraffine ainsi que des ponctions et liquides
- L'étude cytologique des urines, des liquides et du LCR (**Bhattacharji., 1994**)

2.3.4 Coloration RAL Diff-Quik :

Le kit RAL Diff-Quik est une variante à action rapide de la coloration de Romanowsky.

Dans un tampon aqueux moyen, ce kit permet:

- Une coloration différentielle des frottis sanguins (comptage différentiel des cellules sanguines, étude morphologique des leucocytes, étude des parasites) et des frottis médullaires (myélogrammes).
- La détection des parasites tissulaires et sanguins en mycologie médicale et vétérinaire
- L'étude cytologique et structurale de coupes de tissus fixes et inclus en paraffine comme fluides et punctions.
- L'étude cytologique des urines, de la colonne vertébrale et d'autres liquides L'analyse des frottis est identique à celle réalisée avec la coloration standard de Romanowsky(**Brouland., 1995**).

Partie expérimentale

1 Matériels et méthodes

En vue de mettre en œuvre le volet expérimental de notre recherche, nous avons recouru aux méthodes et matériels dont nous présentons les éléments suivants :

1.1 Zone d'étude

La première étape qui consiste principalement à réaliser des prélèvements cytologiques vaginaux chez les vaches se trouvant à différents stades physiologiques s'est déroulée dans une exploitation privée située dans la région de Sougueur (**fig.4**) Cette exploitation est spécialisée dans la production laitière.



Figure 4. Localisation géographique du lieu de l'étude

1.2 Matériel biologique

Dix-huit vaches laitières ont été recrutées pour les prélèvements vaginaux. Ces vaches sont de différentes races ; 05 sont de race PRH, 02 de race MTB et 11 sont des sujets croisés ; l'âge moyen est de 4 à 6 ans et se trouvaient dans des stades physiologiques différents et sont conduites en semi-intensif dans un même bâtiment. La production laitière moyenne est de 3600 kg/vache/an.

Il est à signaler que pour chaque vache toutes les données (race, âge....) sont relevées. En outre les événements physiologiques tels que les stades de gestation présence de chaleur, retour en chaleur affections post-partum, vêlage, la rétention placentaire, métrite ... ; ont été enregistrés.

1.3 Méthodologie

1.3.1 Réalisation des frottis

Pour chacune des vaches recrutées, nous avons réalisé un lavage vaginal, un prélèvement cytologique vaginal. Les vaches à prélever sont attachées à l'auge un opérateur tient la queue de la vache pendant que le technicien (vétérinaire praticien) prépare le matériel. Ce même opérateur réalise le nettoyage de la région périnéale, vulvaire et la commissure inférieure de la vulve, Après un premier nettoyage à l'aide de papier absorbant sec, un frottis vaginal est réalisé pour chaque vache.

Les frottis vaginaux, ont été réalisés à l'aide d'une cytobrosse stérile (Brush/Cyto-Brush) **Fig.5.**



Figure 5. Cytobrosse pour cytologie vaginale des bovins

Par un mouvement de rotation, la cytobrosse est pressée contre la paroi du vagin et le frottis est réalisé **Fig.6.** A la fin du prélèvement, la lame portant le frottis est immédiatement aspergée par une solution à base d'alcool (terpolymer of terbutyl acrylate éthyle acrylate aminométhylépranol) pour fixer le frottis et éviter l'autolyse des cellules et par conséquent garder les structures cellulaires. Après fixation les lames sont séchées à l'air libre et conservées pour les colorations et les lectures ultérieures.



Figure 6. Technique de prélèvement cytologique (frottis vaginal)

1.3.2 Coloration et lecture

- **Matériel**

Le matériel et les produits ayant servi à l'élaboration de notre travail expérimental sont les suivants :

- Lames ;
- Lamelles ;
- Fixateur à base d'alcool ;
- Colorant MGG ;
- Eau distillée ;
- Microscope optique tri oculaire *ZEISS Primostar* muni d'une camera *AxioCamEPc 5s*

Méthode

- La démarche méthodologique adoptée dans notre travail expérimental est indiquée dans le processus suivant :
- Colorer les frottis par le MG, laisser agir deux à minutes ;
- Chasser le colorant par un jet d'eau de robinet (premier rinçage) ;
- Recouvrir la lame par la solution de *Giemsa* diluée à l'eau distillée (quarante Cinq ml d'eau distillée et Cinq ml de *Giemsa*, laisser agir pendant 10 mn ;
- Chasser le colorant par un jet d'eau de robinet (deuxième rinçage) ;
- Sécher à l'air libre

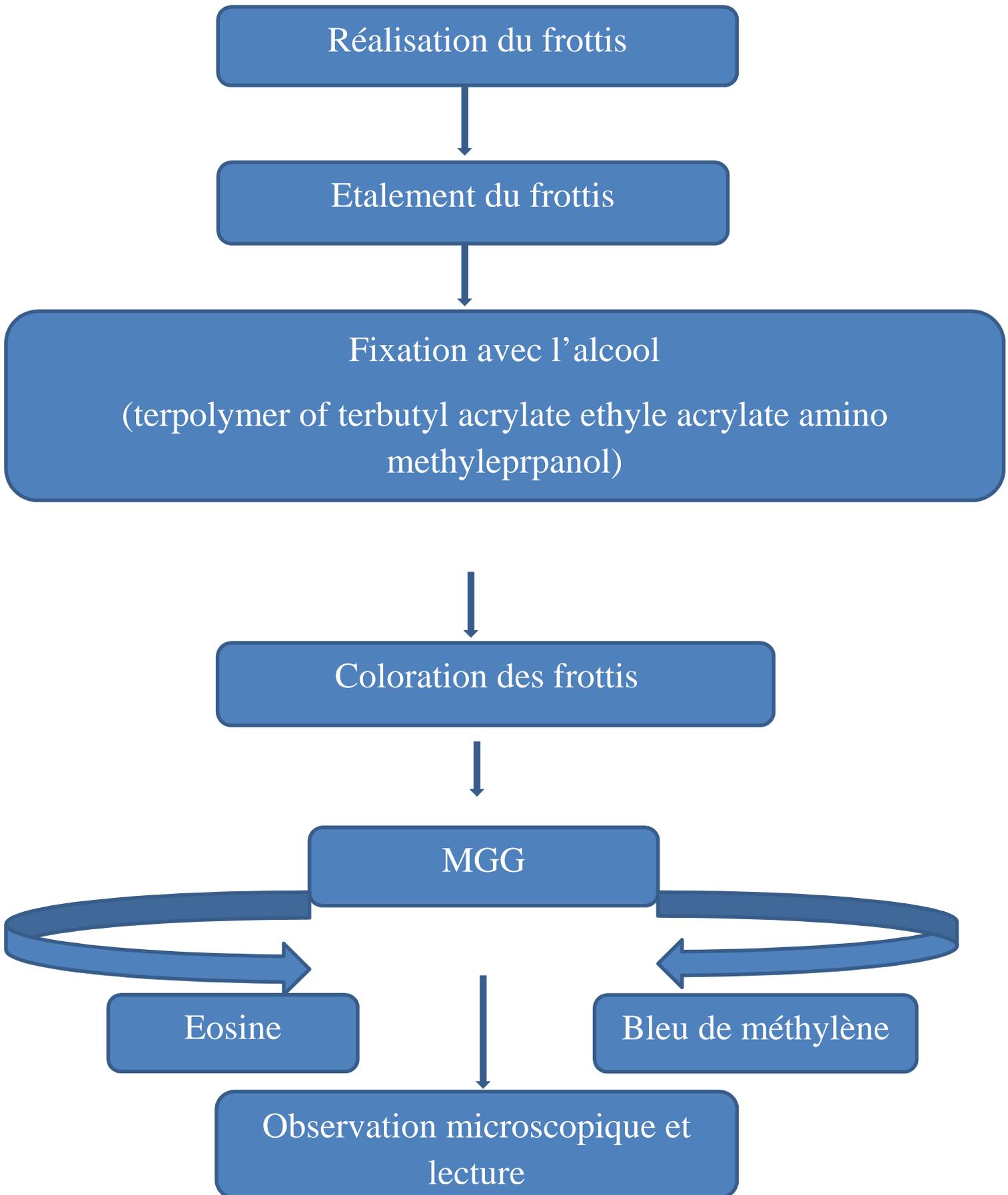


Figure 7. Protocole expérimental.

1.4 Résultats

Les différents frottis ont été colorés au MGG et ont été classés suivant leur aspect cytologique et la prédominance du type cellulaire : parabasales, intermédiaires, superficielles ou neutrophiles. Le classement nous a donné 11 groupes selon le type cellulaire.

1.4.1 Cytologie des frottis : F1, F9 et F13 (Groupe 1)

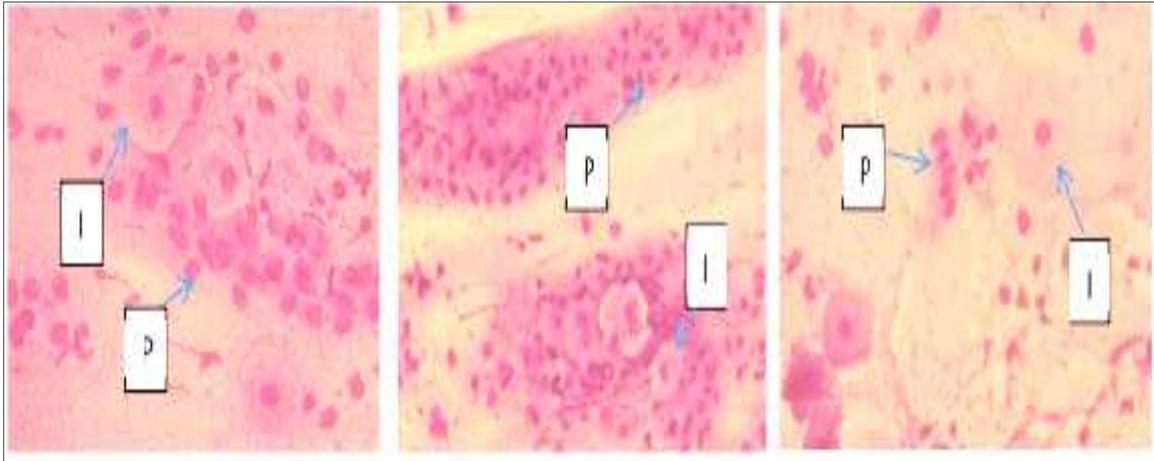


Figure 8. Photomicrographes des frottis vaginaux **F1, F9 et F13**
(I : Intermédiaires ; P : Parabasales)

Tableau 1. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis : **F1, F9 et F13**

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F1	++++	+	-	-
F9	++++	+	-	-
F13	+++	+	-	-

++++, très fréquent, +++ fréquent, ++ modéré, + faible, - absent

Au cours de l'observation des frottis numéro : un, neuf et treize on aura remarqué que la fréquence des cellules parabasales est relativement élevée par rapport aux cellules intermédiaires avec une absence totale des cellules superficielles.

1.4.2 Cytologie des frottis des frottis : F4 et F14 (Groupe 2)

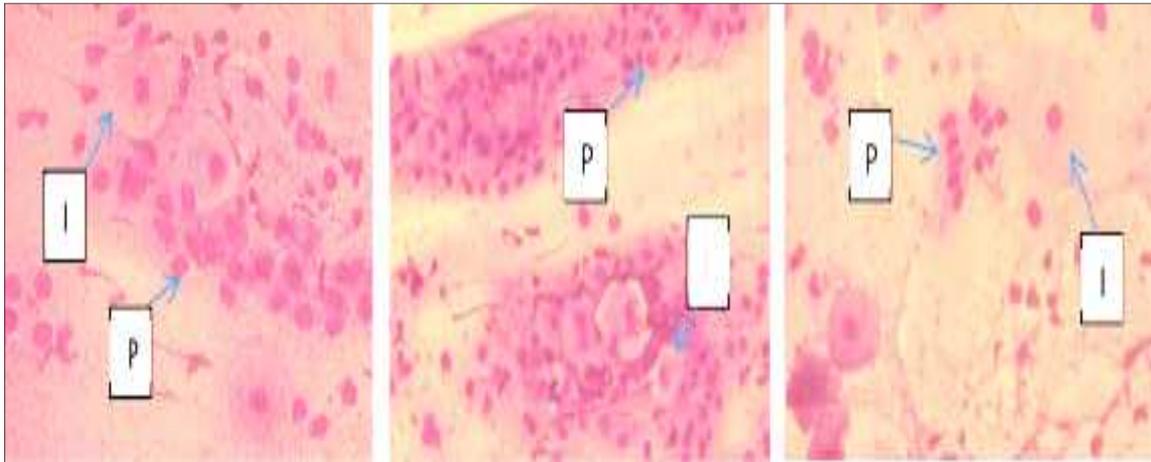


Figure 9.Photomicrographes des frottis vaginauxF4 et F14
(I : Intermédiaires ; P : Parabasales)

Tableau 2. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis : F4 et F14

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F4	++++	++	-	++++
F14	+++	++	-	++++

On remarque la dominance des cellules parabasales par rapport aux cellules intermédiaires avec une absence totale des cellules superficielles. Cependant, on constate une présence importante des neutrophiles

1.4.3 Cytologie des frottis : F2 et 07(Groupe3)

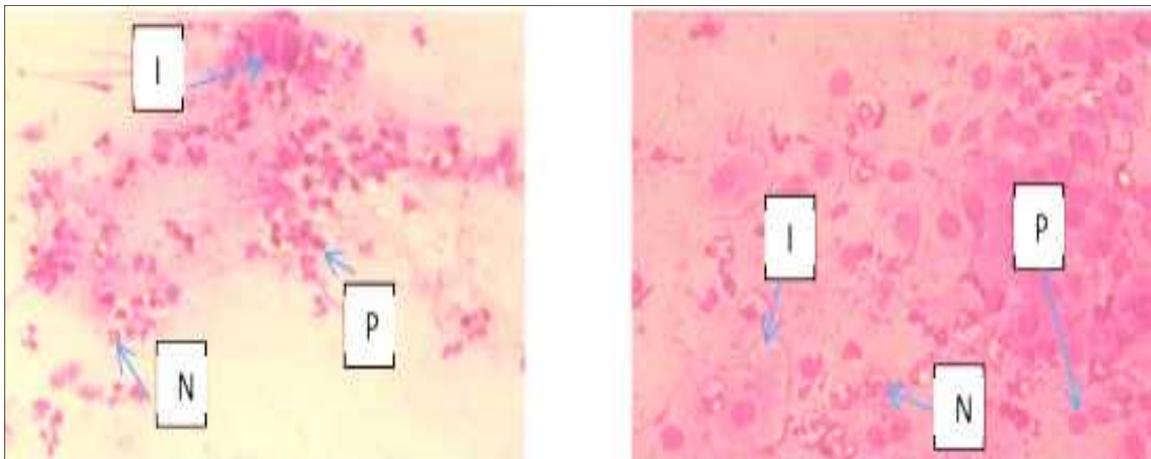


Figure 10.Photomicrographes des frottis vaginauxF2 et 07
(I : Intermédiaire ; P : Parabasales ; N : Neutrophiles)

Tableau 3. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis F2 et F7

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F2	+++	++	+	++++
F7	+++	++	+	++

Le nombre des cellules parabasales est sensiblement plus élevé que celui des cellules intermédiaires avec une faible présence des cellules superficielles sans omettre de signaler la présence importante des neutrophiles.

1.4.4 Cytologie des frottis : F5 et F12(Groupe 4)

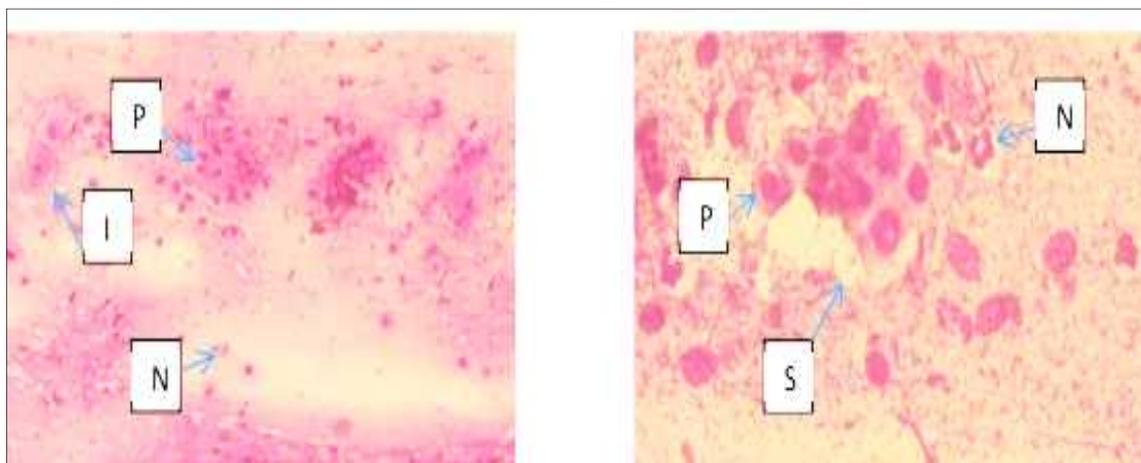


Figure 11. Photomicrographes des frottis vaginaux **F5 et F12**
(I : Intermédiaire ; P : Parabasales ; N : Neutrophiles ; S : Superficielles)

Tableau 4. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis **F5 et F12**

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F5	+++	+++	-	++
F12	+++	+++	-	-

L'observation microscopique nous laisse voir une présence considérable des cellules parabasales et intermédiaires avec l'inexistence des cellules superficielles. On remarque quand même un taux assez faible des neutrophiles dans le frottis numéro cinq.

1.4.5 Cytologie des frottis F8 et F10 (Groupe 5)

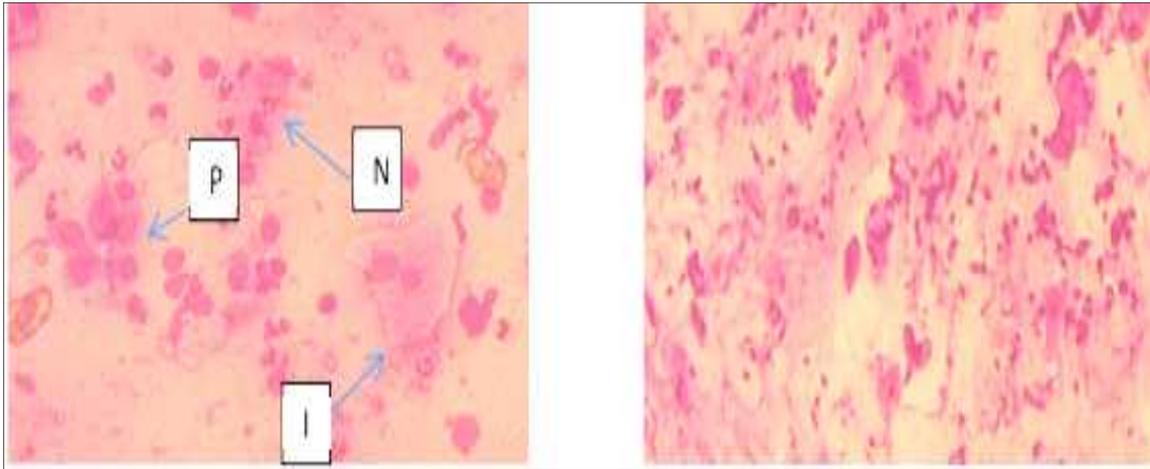


Figure 12. Photomicrographes des frottis vaginaux **F8** et **F10**

Tableau 5. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis **F8** et **F10**

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F8	++++	++	-	++
F10	++++	++	-	++

On aura noté l'existence de quelques cellules intermédiaires avec une dominance des cellules parabasales tout en signalant un quasi inexistance des cellules superficielles. Et un faible nombre des neutrophiles.

1.4.6 Cytologie du frottis F3 (Groupe 6)

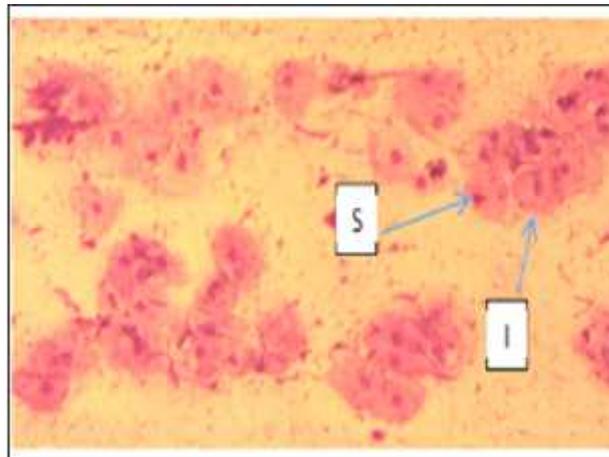


Figure 13. Photomicrographe du frotti vaginal **F3**
(I : Intermédiaire ; P : Parabasales)

Tableau 6. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis **F3**

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F3	+	++++	++	-

On remarque une prédominance des cellules intermédiaires par rapport aux cellules superficielles avec un taux faible des cellules parabasales.

1.4.7 Cytologie du frottis F6 (Groupe 7)

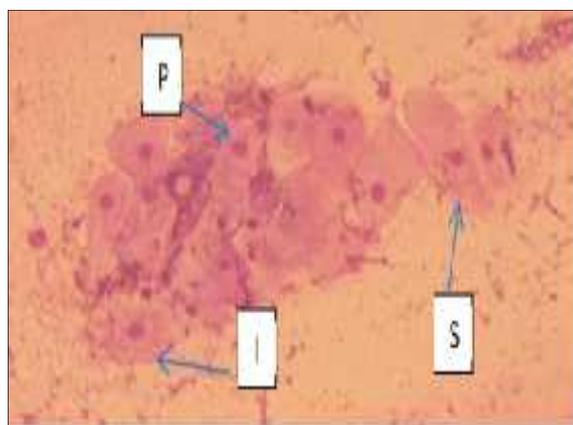


Figure 14. Photomicrographe du frotti vaginal **F6**
(I : Intermédiaire ; P : Parabasales ; S : superficielle)

Tableau 7. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis **F6**

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F6	+++	+++	+	+

L'observation a éclairé sur la dominance des deux types de cellules : parabasales et intermédiaires, tous les deux manifestant une sensible égalité de leur nombre, et ce comparativement aux cellules superficielles et neutrophiles dont le taux est relativement faible.

1.4.8 Cytologie du frottis F11 (Groupe8)

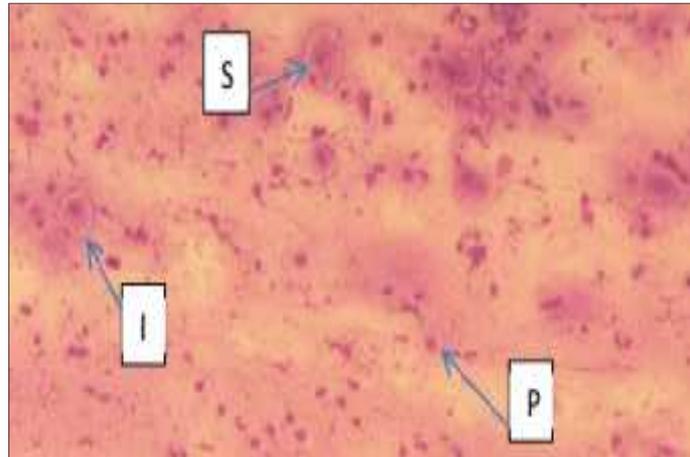


Figure 15. Photomicrographe du frotti vaginal F11
(I : Intermédiaire ; P : Parabasales ; S : superficielle)

Tableau 8. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis F11

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F11	+++	++	-	++

L'observation microscopique a révélé qu'un nombre conséquent de cellules parabasales comparativement à celui des cellules intermédiaires, ainsi que l'existence du neutrophile avec une absence totale des cellules superficielles.

1.4.9 Cytologie du frottis F15 (Groupe 9)

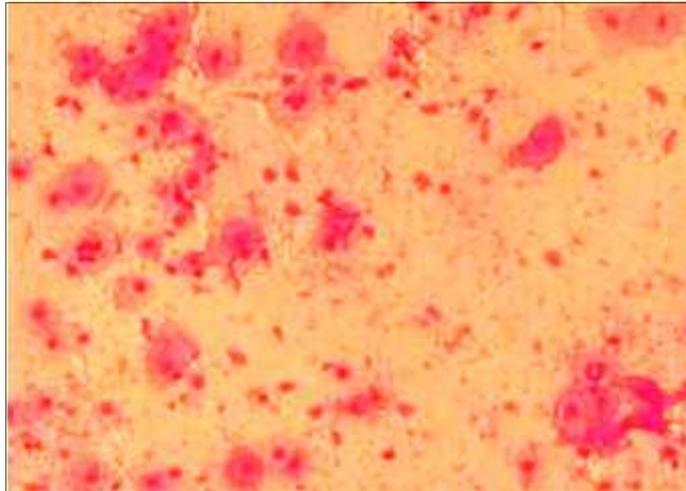


Figure 16. Photomicrographe du frotti vaginal **F15**

Tableau 9. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis **F15**

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F15	+	++++	++	-

On observe la prédominance des cellules intermédiaire par rapport aux cellules superficielles cependant on a constaté un taux assez faible des cellules parabasales avec une absence totale des neutrophiles.

1.4.10 Cytologie du frottis F16 (Groupe10)

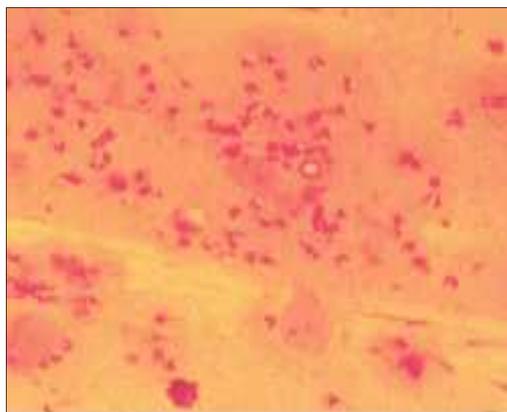


Figure 17. Photomicrographe du frotti vaginal **F16**

L'observation microscopique montre la dominance des cellules superficielles comparativement aux cellules parabasales et cellules intermédiaires, avec un taux assez élevée des neutrophiles.

1.4.11 Cytologie des frottis F17 et F18 (Groupe 11)

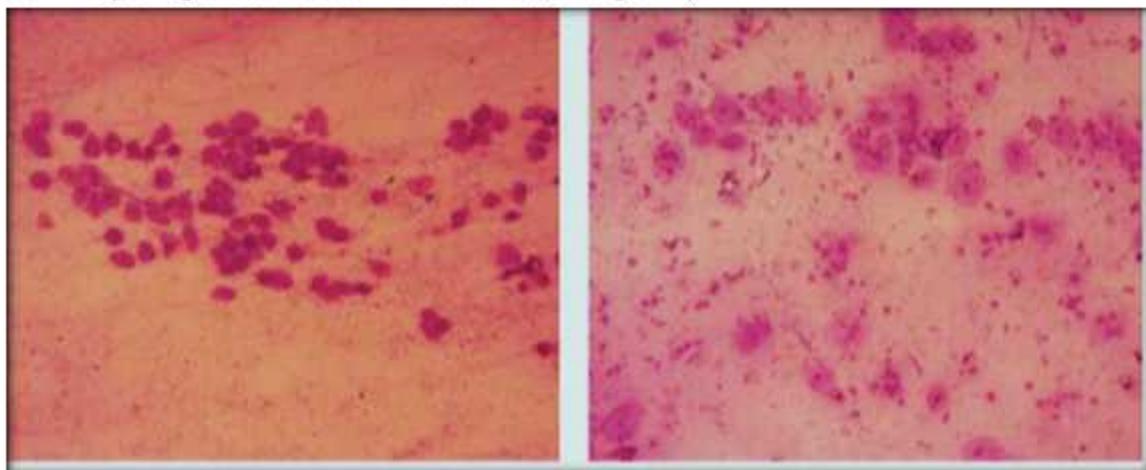


Figure 18. Photomicrographes des frottis vaginaux **F17 et F18**

Tableau 10. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis **F16**

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F16	++	++	+++	++++

Tableau 11. Fréquence des cellules épithéliales vaginales des frottis **F17 et F18**

Frottis	Types de cellules			
	Parabasales	Intermédiaires	Superficielles	Neutrophiles
F17	++	+	+++	-
F18	+	+	++++	-

On constate la prédominance des cellules superficielles par rapport aux cellules intermédiaires et cellules parabasales.

Discussion

Les études cytologiques sont largement pratiquées et s'avèrent un moyen fiable de diagnostic chez les femelles de plusieurs espèces. L'étude de l'épithélium vaginal, est un moyen simple et efficace pour le suivi et le contrôle de l'état physiologique des vaches, cette étude se propose d'étudier le comportement de l'épithélium vaginal chez des vaches se trouvant dans différents stades physiologiques et pour chacune d'elles un frottis vaginal a été réalisé.

Ainsi, les observations microscopiques des frottis 12 et 15, réalisés sur des vaches se trouvant dans deux différents stades physiologiques : anoestrus et œstrus respectivement pour la vache (frottis 12) la vache (frottis 15). On aura noté un taux élevé des cellules parabasales du frottis 12 comparativement à celui du frottis 15 enregistrant un taux assez faible de ce type de cellules, Ce qui est en adéquation avec les travaux de (Nalley et al., 2001) et (Dumon., 2013) qui nous stipulent que les cellules parabasales se trouvent dans l'anoestrus mais ne sont pas fréquentes durant la phase œstrale. Selon un travail expérimental réalisé à l'université Veracruzana par (Lopèz., 2010) confirmant une diminution de ce type de cellules pouvant atteindre 2% en œstrus.

D'autre part, (Hernández., 2005) atteste que c'est dans cette phase qu'a lieu l'apoptose, qui est un processus physiologique qui a lieu dans la cavité vaginale, sous l'influence des œstrogènes changeant morphologiquement l'apparence de ces cellules parabasales. On note cependant l'existence considérable des cellules intermédiaires dans ces deux frottis ; sans omettre de signaler la présence des cellules superficielles seulement dans le frottis 15. Les études réalisées par (Johenston et al., 2001) et (Bower., 2006) nous montrent que les cellules intermédiaires se trouvent généralement dans toutes les phases du cycle œstral alors que celles dites superficielles sont en grande quantités dans la phase œstrale et non pas dans l'anoestrus.

D'une autre part le frottis vaginal numéro 6 présentant une différenciation cellulaire, la fréquence des cellules parabasales et cellules intermédiaires y est relativement élevée par rapport aux cellules superficielles, ce qui est indicateur que cette vache est en metoestrus tardif. Ces résultats sont affirmés par les études de (Dore., 1978) qui stipule que les cellules parabasales et les cellules intermédiaires sont prédominantes par rapport aux cellules superficielles pendant cette phase metoestrus.

L'observation microscopique des frottis 9, 13 et 14 nous laisse voir que le nombre des cellules parabasales est sensiblement plus élevé que celui des cellules intermédiaires, ce qui nous permet d'authentifier le stade *post partum* de ces vaches. Les études de Sharma en 2016 certifient qu'après la parturition et durant le *post partum*, il se produit une augmentation des cellules parabasales accompagné de la diminution des cellules intermédiaires est une conséquence des modifications du rapport œstrogène progestérone après parturition.

Les résultats du frottis 5 montrent que cette vache est en dioestrus, ce qui est en conformité avec les travaux de Kurudu 1993 ainsi que ceux de Duran et al., 2015 qui ont évoqué l'augmentation du nombre de cellules parabasales et intermédiaires sous l'influence de la progestérone.

Contrairement aux résultats de (Kurude., 1993) où la cytologie vaginale de *repeat breeder* a révélé la présence des cellules intermédiaires, avec un nombre réduit des cellules cornifiées. Notre recherche a fait ressortir un nombre considérable des cellules parabasales par rapport aux cellules intermédiaires avec une absence totale des cellules superficielles.

Selon Hussain 1979 qui a déclaré qu'un frottis montrant une prédominance de cellules intermédiaires avec une tendance croissante pourrait être utilisé comme aide à la confirmation de la gestation. Ceci étant d'autant plus valable tout au long de la gestation (Hussain et al., 1979)

Par ailleurs, nos observations sur des vaches gestantes à différents stades, ciblant les frottis 1,2,3,7,8,10 et 11 nous ont éclairé sur la dominance des cellules parabasales comparativement aux intermédiaire exceptée la vache numéro 3 où les cellules intermédiaires prédominent. Les constats cités ci-avant ne sont pas semblables à ceux de Hussain and Khan(1979) chez qui les cellules intermédiaires prédominent, suivis des cellules parabasales ce qui pourrait probablement être dû à une activité œstrogénique accompagnés d'une forte influence continue de la progestérone. Dans les frottis vaginaux 2 et 3 dont les stades de gestation respectives sont de 3 mois et 5 mois, on a relevé un taux assez faible des cellules superficielles, Sharma 2016 a infirmé nos résultats par ses études qui montrent qu'aux environ 250-260 jours de gestation, il y a une augmentation significative du nombre de cellules superficielles. Cette contradiction pourrait être due à une mauvaise coloration ou une mauvaise interprétation.

La prépondérance des cellules superficielles par rapport aux parabasales et intermédiaires notée sur les frottis 16,17 et 18, laisse dégager que ces vaches sont en œstrus tardif (dernier tiers des chaleurs). Dans ce sens, Subramanian et Pattabiraman (1988), ont évoqué une augmentation du nombre des cellules : superficielles et cornifiées au niveau de l'œstrus, la cornification des cellules épithéliales s'est avérée légère, modérée et intense au début de l'œstrus, à la fin de la chaleur et après l'ovulation respectivement (Rao et Rao, 1982).

En nous référant à Kasimanickam 2004 qui considère la référence que la cytologie vaginale est une technique expérimentale des différentes catégories des endométrites chez la vache, notre observation microscopique des frottis, sur les 10 vaches manifestant des neutrophiles qui témoigne la présence d'une inflammation que l'on pourrait éventuellement qualifier d'endométrite.

En fin et la lumière des résultats escomptés et obtenus nous pouvons dire que la cytologie vaginale peut être un moyen non négligeable pour le diagnostic, le contrôle et le suivi des événements physiologiques chez la vache.

Conclusion

La cytologie vaginale comme étant indéniablement une science efficiente, qui offre l'avantage de faciliter l'identification de l'état de la gestation, d'optimiser le timing de la parturition tout en étayant le diagnostic des pathologies de l'appareil reproducteur telle que l'endométrite, notamment chez les vaches où elle se propose comme une technique permettant de mettre en exergue de bons indicateurs cliniques.

Ainsi, l'examen des divers stades physiologiques par le biais de l'observation microscopique des différents frottis nous a permis de discerner entre une diversité de types cellulaires : parabasales, superficielles, intermédiaires et neutrophiles.

Dans ce sens, les résultats obtenus suite aux constats faits sur des vaches gestantes ont révélé la dominance des cellules parabasales suivies des cellules intermédiaires tout en notant la présence des superficielles et de quelques neutrophiles.

D'autre part, s'agissant des frottis des vaches en œstrus tardif, on aura relevé la prépondérance des cellules superficielles par rapport aux deux autres types : intermédiaires et parabasales. Tandis que le frottis du début d'œstrus laisse dégager la suprématie des cellules intermédiaires comparativement aux superficielles.

Cependant, les frottis des vaches en *post partum* signalent une simultanée d'une augmentation des parabasales avec une diminution des intermédiaires sans omettre de noter l'absence totale des superficielles.

Il en ressort donc que le recours fréquent à l'examen cytologique et donc sa maîtrise comme étant un outil de diagnostic dans la détection des stades de la reproduction demeure désormais sine qua non en vue d'une meilleure rentabilisation de l'élevage bovin tant sur le plan de la production que sur celui de la reproduction, d'où son primordial rôle contributif dans l'essor de l'économie nationale et l'auto-suffisance à laquelle elle aspire.

Références bibliographiques

Arthur, G.H., Noakes, D.E and Pearson, H., 1992, Veterinary reproduction and obstetrics . 6th Ed, 641 pages, BailliereTindall, London.

Aughey Elizabeth., FryeFredric L., 2001.Comparative VeterinaryHistologywithClinicalCorrelates.MANSONPublishing Ltd. London.183-214.

Ax, R. L., R. U. Peralta, W. G. Elford, and A. R. Hardie., 1984.Studies of cysticovaries in dairycows.Page 205 in Dairy Science Handbook.Vol. 16.F. A. Baker and M. E. Miller, ed. WestviewPress, Boulder, CO.

Barone robert, 1987. Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 splanchnologie 2. Appareil uro-génital .fœtus et ses annexes .péritoine et topographie abdominale. Laboratoire d'anatomie ecole national vétérinaire lyon. 283-327, 317-318.

Barret, J., 2011. Zootechnie générale. Vol., 3, Ed., TEC et DOC

Bartlett PC, Kirk JH, Wilke MA, Kaneene JB, Mather EC., 1986.Metritiscomplex in Michigan Holstein-FriesianCattle: incidence, descriptive epidemiology and estimatedeconomic impact. PrevVet Med 4, 235-248

Bartlett, P. C., P. K. Ngategize, J. B. Kaneene, J. H. Kirk, S. M. Anderson, and E. C., Mather., 1986.Cysticfolliculardisease in Michigan Holstein-Friesiancattle: incidence, descriptive epidemiology, and economic impact. Prev. Vet. Med. 4:15.

Batellier, F., Blesbois, E., Brillard, J.P., Gorovoun, M., Hérault, F., Heyman, Y., Perrier, G., Rogier, S.M.C., Savary, F., Vignon, X., 2011. Reproduction des animaux d'élevage. Vol., 2, Ed., Educagri Paris.

BelkaidM., 1992. Diagnostic d laboratoire en parasitologie, T1, edKhanzarahma, alger
BHATTACHARJI L. M., JASWANT SINGH ., 1994Rapid staining of malarialparasitis by a water soluble stain, The Ind. Med. Gaz., n°3, mars 1944, p.102-104.

Bologna, J.W., 2001.Genitourinaryproblemsassociatedwithmenopause. Anim. Reprod. Sci. 90:51-55.

Bonnand P., charbonnier G., Chevallier A.,Frappat B., Freret S., Leterme J., Manciaux L., Paccard P, Pacory J., Petit M., Pollet T., Ponsart C., Viala J., 2013. 4ème édition repro guide les connaissances et les conseils indispensables pour améliorer la fertilité dans les élevages

Bowen R A., 2006 Techniques for Preparing a Canine Vaginal Smear (Colorado State University : Animal Reproduction and BiotechnologyLaboratory)

BROULAND J-Ph., MIKOL J., PRAT J.J.,1995. Une alternative à la coloration de Giemsa sur coupe histologique (Service Anatomie et Cytologie Pathologiques - Hôpital Lariboisière), Assises d'Anatomie Pathologiques, 23-24 mars 1995, p. 44, p 211

Bruyere, P., 2009. Mise en évidence des signes secondaires de chaleurs chez la vache laitière par vidéosurveillance ; étude au Centre Lucien Biset de Poisy (74330). Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, France

Busman H., 2013 Histologi Ulas Vagina dan Waktu Siklus Estrous Masa Subur Mencit Betina Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumpu Te ki Prosiding Semirata (Lampung: FMIPA Universitas Lampung)

Carbonneau S, Sévigny C, Treblay D., 2014, GUIDE DES BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE EN CYTOLOGIE 2^e EDITION

Cauty, I., Perreau, J.M., 2009. Conduite du troupeau bovin laitier : production, qualité, rentabilité. 2e éd. Paris: Éditions France Agricoles.

Chaikhun, T., T. Tharasanit, J. Rattanatep, F. De Rensis and M. Techakumphu., 2010. Fertility of swamp buffalo after synchronization of ovulation by sequential GnRH and PGF administration (ovsynch) and fixed-timed artificial insemination. *Theriogenology*, 74: 1371-1376.

Chen, T.-A., & Hill, P. B., 2005. The biology of *Malassezia* organisms and their ability to induce immune responses and skin disease. *Veterinary dermatology*, 16(1), 4–26.

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

Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH., 2006. Guide pratique de cytologie et hématologie du chien et du chat. Paris: Éditions Med'com; 2006.

DATRY A., LECSO G., RICHARD-LENOBLE D. et KOMBILA M., 1982. 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.

Derradji, M., 2015. Les Chaleurs et leurs Impacts sur les Performances Repro-Productives chez la Vache Laitière

Descôteaux, L , Vaillancourt, D ., 2012. Gestion de la reproduction des bovins laitiers. Ed., MED'COM. Page 54, 94

Dey, P., 2018. Routine Staining in Cytology Laboratory. In: Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology. pp 133-138 Springer, Singapore

Dhurba G., 2020. Cytopathologie by Editorial team

DORE MA., 1978 The role of the vaginal smear in the detection of metoestrus and anoestrus in the bitch. *J. small Anim. Pract.*, 19, 561-572

Dumon, C., 2013. Frotis vaginales e inseminación en perras. *Revista de AVEPA*. Vol. 9, N° 3, 37-38.

Duran, P., H.K.V. Corpuz, D.C.A. Gaspar, C.M. Misola, M.P. Munar, Hufana-Duran., 2015. Non invasive clinical diagnosis of estrus for AI synchronization using vaginal

cytology in three bubaline breeds in the Philippines. Research journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical, 6 : 562-567

DUVAL-DESNOES Olivier, André Robert 2005, Anomalies congénitales chez les bovins **Enseignement agricole et formation professionnelle., 1995**. Reproduction des mammifères d'élevage. Ed foucher. Page 15

Etherington WG, Martin SW, Dohoo IR, Bosu WTK., 1985. Interrelationships between ambient temperature, age at calving, postpartum reproductive events and reproductive performance in dairy cows: a path analysis. Can J Comp Med 49, 254-260

Faye B, Fayet JC, Brochart M, Bamouin J, Paccard P., 1986. Enquête éco-pathologique continue. 4. Mise en évidence des associations pathologiques en élevage bovin laitier : données d'élevage. Ann Rech Vét 17, 257-264

FIENI F, TAINTURIER D, BRUAS J.F, BATTU I., 1995. Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache. Bulletin des GTV (4B). 512: 35-49. 81

Foisseau, J., Leborgne, M., Montméas, L., Selin, I., Tanguy, J., Verginianne, G., Wimmer, E., 2013. Reproduction des animaux d'élevage. Vol., 3, Ed., Educagri Paris.
Giroud, O., 2007. Détection des chaleurs des vaches laitières par vidéosurveillance : Evaluation des méthodes d'utilisation. Mémoire de Fin d'Etude, ISARA-Lyon, France.

Hansel W, Arsdill MA, Roberts SJ (1950). The vaginal smear of the cow and causes of its variation. Am. J. Vet. Res. 10: 221-228.

Hanzen Ch., 2008, Pathologies du tractus génital femelle des ruminants.

Hernández, M., 2005. Estandarización de la citología vaginal exfoliativa correlacionando los niveles séricos de progesterona en perras durante la peri-ovulación. Revista Spei Domus, 9-10

Huffman EM, Mortimer R, Olsen JD, Ball L, Farin PW., 1984. Risk factors for prebreeding pyometra on four Colorado dairy farms. Prev Vet Med 2, 785-790

Hussain MP, Khan ACK ., 1979. Exfoliative cytology and biopsy of vagina in pregnant cows. Kerala J. Vet. Sci. 10(2): 230-233

Johnston S D, M R Kustritz and P Olson., 2001 Canine and Feline Theriogenology (Philadelphia: W.B. Saunders comp) Pp 32-40

Kasimanickam R., 2004 Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. Theriogenology; 62:9-23.

Kraznicakova M, Bokeova E, Marak I, Hendrichovsky V, Elecko J., 1992. Dynamics of changes in cytological picture of vaginal smears and circulating ovarian hormones during periparturition in ewes. Vet. Med. (Prabha) Czechoslovakia. 37: 449-458

Kühnel Wolfgang ., 2003. Atlas de poche d'histologie. 3e édition Flammarion. 412-428.

Lee, L. A., J. D. Ferguson, and D. J. Galligan., 1988. The use of survival analysis to quantify days open: advantages and implications. Acta Vet. Scand. 84(Suppl.):433.

López, C., 2010. Aparato Reproductor de la Hembra. Departamento de Producción Animal y Pasturas Grupo Disciplinario Fisiología y Reproducción, (págs. 30-49). Cerro Largo-Uruguay

Marcondes, F.K., F.J., Bianchi and A.P. Tanno., 2002. Determination of the estrous cycle phase of rats: some helpful considerations. J. Brazilian Arch. Biol. Technol. 4(A):600- 614

Maree C., 1986. The influence of high level feeding on the duration of parturition and the incidence of dystocia in dairy cows. J S Afr Vet Assoc 57, 151-153

Markusfeld O., 1987. Periparturient traits in seven high dairy herds. Incidence rates, association with parity, and interrelationships among traits. J Dairy Sci 70, 158-166

Mayor P, Galvez H, Guimaraes DA, Lopez-G F, Lopez M (2005). Serum estradiol-17 α , vaginal cytology and vulval appearance as predictors of estrus cyclicity in the female collared peccary (*Tayassutajacu*) from the eastern Amazon region. Anim. Reprod. Sci. 97: 165-174.

Mayor, P., Lopez-Béjar, M., Jori, F., Fenech, M., López-Gatius, F., 2003. Reproductive functional anatomy and oestrous cycle pattern of the female brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray 1842) from Gabon. Anim. Reprod. Sci. 77, 247–259.

MEREDITH., 1995. Animal breeding and infertility – UK : BLACKWELL SCIENCE

Nalley W M M, R Handarini, M Rizal, R I Arifiantini, T S Yusuf and B Purwantara., 2011 Penentuan siklus estrus berdasarkan gambaran sitologi vagina dan profil hormon pada Rusa Timor J. Vet. 12 98-106

Otsuka I, Kameda S, Hoshi K., 2013 Early detection of ovarian and fallopian tube cancer by

Pellestor, F., 2008. Histologie des appareils génitaux. *Université de Montpellier.*

Pillai V.V., 2012 Efficacy of simultaneous use of enrofloxacin and metronidazole in the treatment of endometritis in crossbred cattle - a field trial. JIVA. ;10(2):37–39.

Rao RP, Sreeraman PK, Rammohan Rao 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

Rao VS, Rao RA., 1982. Characteristics of oestral mucus and cytology of vaginal epithelium of crossbred heifers. Indian vet. J. 59 : 400.401

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

Schutte, A. P., 1967. Canine vaginal cytology –III Compilation and evaluation of cellular. Journal of Small Animal Practice Vol 8, 313–317

Sheldon I.M, Lewis G.S, LeBlanc S, Gilbert R.O., 2006 Defining postpartum uterine disease in cattle. Theriogenology. 1516–1530.

Steffan J., 1987. Les métrites en élevage bovin laitier. Quelques facteurs influençant leur fréquence et leurs conséquences sur la fertilité. Recl Med VetEc Alfort 163, 183-188

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

Subramanian A, Pattabiraman SR., 1988. Exfoliative vaginal cytology in bovines. Indian J. AnimSci. 58 : 209-211

Toma S., 2006. Comparison of 4 fixation and staining methods for the cytologic evaluation of ear canals with clinical evidence of ceruminous otitis externa. Vet Clin Pathol 2006;35: 194—8

Vallet A, Carteau M, Salmon A, Chatelin Y., 1987. Epidémiologie des endométrites des vaches laitières. Recl Med VetEc Alfort 163, 189-194

Wattiaux, M.A., 1996. Guide Technique Laitier : Reproduction et Sélection Génétique, Institut Babcock pour la Recherche et le Développement International du Secteur Laitier.

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

Zidane K., 2008 . Incidence des pathologies utérines durant le post partum chez la vache laitière de la région de Tiaret : utilisation d'un traitement à base de PGF2 . Thèse de doctorat vétérinaire, Université Ibn Khaldoun ,Tiaret ,101pages

Annexes

Annexe 1. Technique de prélèvement des frottis vaginaux

